

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

PLANTAS TÓXICAS PARA RUMINANTES E EQUÍDEOS NO BRASIL

CLARICE RICARDO DE MACÊDO PESSOA

PATOS-PB

2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

PLANTAS TÓXICAS PARA RUMINANTES E EQUÍDEOS NO BRASIL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Campina Grande como requisito parcial para obtenção do título de doutor.

Doutoranda: Clarice Ricardo de Macêdo Pessoa

Orientadora: Rosane Maria Trindade de Medeiros

PATOS-PB

2013

P475p Pessoa, Clarice Ricardo de M.
Plantas tóxicas para ruminantes e equídeos no Brasil / Clarice
Ricardo de Macedo Pessoa. -- Patos - PB, 2013.
68 f.: il.; 29 cm.

Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade
Federal de Campina Grande. Centro de Saúde e Tecnologia Rural,
Patos - PB, 2013.

Orientadora: Prof. Dra. Rosane Maria Trindade de Medeiros.

1. Plantas tóxicas - Brasil. 2. Patologia - ruminantes I. Título.
II. Medeiros, Rosane Maria Trindade de.

CDD 581.69981

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Biblioteca SIBI/UNIVASF

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

PLANTAS TÓXICAS PARA RUMINANTES E EQUÍDEOS NO BRASIL

Tese elaborada por

CLARICE RICARDO DE MACÊDO PESSOA

Aprovado em ___/___/___

Banca examinadora

Prof^ª Dr^a. Rosane Maria Trindade de Medeiros

UAMV/UFCG - Patos/PB

(Orientadora)

Prof. Dr. Fábio de Souza Mendonça

DMFA/UFRPE- Recife/PE

(Examinador I)

Dr. Ricardo Barbosa de Lucena

LPV/UFSM- Santa Maria/RS

(Examinador II)

Prof. Dr. Gildenor Xavier Medeiros

UAMV/UFCG- Patos/PB

(Examinador III)

Prof. Dr. Eldinê Gomes de Miranda Neto

UAMV/UFCG- Patos/PB

(Examinador IV)

PATOS-PB

2013

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos familiares, orientadores, professores, colegas e aos funcionários meu sincero agradecimento. Ao meu Senhor toda honra e toda glória.

RESUMO

Os capítulos que compõem esta Tese derivam de estudos sobre intoxicações por plantas, realizados por um grupo de pesquisa sobre plantas tóxicas do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para o Controle de Intoxicações por Plantas, sediado no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande (HV/UFCG), no Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), em Patos, Paraíba. No primeiro capítulo foi realizada uma revisão sobre a importância econômica, epidemiologia e formas de controle das intoxicações por plantas no Brasil. A expectativa de perdas anuais por mortes de animais ocasionadas por plantas tóxicas foi estimada em 820.761 a 1.755.763 bovinos, 399.800 a 445.309 ovinos, 52.675 a 63.292 caprinos e 38.559 equinos. A maioria das perdas são causadas principalmente por *Palicourea marcgravii*, *Amorimia rigida*, *Senecio* spp., *Pteridium aquilinum*, *Ateleia glazioviana* e *Cestrum laevigatum* em bovinos, *Brachiaria* spp em bovinos e ovinos, *Nierembergia veitchii* e *Ipomoea asarifolia* em ovinos, plantas que contêm swainsonina (*Ipomoea carnea*, *Turbina cordata* e *Sida carpinifolia*) em caprinos e *Brachiaria humidicola* e *Crotalaria retusa* em equinos. Os principais fatores epidemiológicos que determinam as intoxicações por plantas incluem palatabilidade, fome, sede, facilitação social, desconhecimento da planta, acesso a plantas tóxicas, dose tóxica, período de ingestão, variações de toxicidade e resistência dos animais às intoxicações. Os métodos de controle e profilaxia pesquisados recentemente no Brasil incluem: controle biológico, aversão alimentar condicionada, utilização de variedades não tóxicas de forrageiras, utilização de animais resistentes às intoxicações e técnicas de indução de resistência. O segundo capítulo resultou de um projeto de pesquisa que visou comprovar a hipótese de que em equídeos o alcaloide dehidropirrolizidínico monocrotalina, presente nas sementes de *Crotalaria retusa*, produz apenas lesões hepáticas enquanto que os alcaloides dehidropirrolizidínicos presentes nas sementes de *Crotalaria juncea* (isohemijunceínas, tricodesmina e junceína) produzem lesão pulmonar. Com os resultados obtidos foi confirmada a hipótese de que enquanto monocrotalina causa lesões hepáticas (necrose centrolobular) os alcaloides contidos em *C. juncea* causam lesões pulmonares (fibrose e proliferação de células Clara). No terceiro capítulo são descritos os sinais clínicos, patologia e medidas de controle da intoxicação por *Marsdenia* spp. em ruminantes, ocorrida em dois surtos espontâneos no semiárido nordestino. A intoxicação caracterizou-se por sintomatologia nervosa, sem lesões histológicas. Sinais nervosos semelhantes aos observados na intoxicação espontânea foram induzidos experimentalmente através da administração de raízes de *M. hilariana* para caprinos e de folhas e raízes de *M. megalantha* para ovinos.

Palavras-chave: Células Clara, alcaloides dehidropirrolizidínicos, necrose entrolobular, *Marsdenia* spp., *Crotalaria* spp., controle de plantas tóxicas, epidemiologia.

ABSTRACT

The papers that comprises this thesis derive from studies of plant poisoning, conducted by a research group on toxic plants from the National Institute of Science and Technology for Control of Poisonous for Plants, based in Veterinary Hospital, Federal University of Campina Grande in Patos, Paraíba. The first paper is a review of the economic importance, epidemiology and control of plant poisonings in Brazil. The expected annual losses by animal deaths caused by toxic plants was estimated in 820,761 to 1,755,763 cattle, 399,800 to 445,309 sheep, 52,675 to 63,292 goats, and 38,559 horses. Most of the losses are caused by *Palicourea marcgravii*, *Amorimia rigida*, *Senecio spp.*, *Pteridium aquilinum*, *Cestrum leavigatum*, and *Ateleia glazioviana* in cattle, *Brachiaria spp* in cattle and sheep, and *Ipomoea asarifolia* and *Nierembergia veitchii* in sheep, plants containing swainsonine (*Ipomoea carnea*, *Turbina cordata* and *Sida carpinifolia*) in goats and *Brachiaria humidicola* and *Crotalaria retusa* in horses. The main epidemiological factors that determine plant poisonings include palatability, hunger, thirst, social facilitation, unaware of the plant, access to toxic plants, toxic dose, ingestion period, variations in toxicity and resistance to poisoning of animals. The methods of control and prevention recently developed in Brazil include: biological control, conditioned food aversion, using non-toxic varieties of forages, use of animals resistant to poisoning, and techniques of inducing resistance. The second paper was the result of a research project that aimed to prove the hypothesis that, in horses, the dehydropirrolizidine alkaloid monocrotaline present in the seeds of *Crotalaria retusa* only produces liver injury, while dehydropirrolizidine alkaloids present in the seeds of *Crotalaria juncea* (isohemijunceines, trichodesmine and junceine) produce lung injury. The results confirmed the hypothesis that while monocrotaline cause liver injury (centrilobular necrosis) alkaloids contained in *C. juncea* cause pulmonary lesions (proliferation of Clara cells and fibrosis). The third paper reports the clinical signs, pathology and control measures of *Marsdenia spp.* poisoning in ruminants the semiarid region of northeastern Brazil. The poisoning was characterized by nervous signs, with non significant histological lesions. Nervous signs similar to those observed in the spontaneous poisoning were induced experimentally by administration of roots of *M. hilariana* for goats and leaves and roots of *M. megalantha* for sheep.

Keywords: Clara cells, dehydropirrolizidine alkaloids, centrilobular necrosis, *Marsdenia spp.*, *Crotalaria spp.*, control of toxic plants, epidemiology.

Lista de figuras

CAPÍTULO II

Pág.

- Figura 1.** Cromatogramas HPLC-ESI (+) MS base de íons (m/z 200 - 1000) dos extratos metanólicos de sementes moídas de: A. *Crotalaria juncea* e B. *Crotalaria retusa*. C - F são os espectros de MS/MS para o isohemijunceínas (pico 2), tricodesmina (pico 3), junceína (pico 1) e monocrotalina (pico 4), respectivamente. A principal isohemijunceína e tricodesmina co-eluem sob estas condições cromatográficas..... 42
- Figura 2.** Estruturas de alcaloides dehidropirrolizidínicos referidos no texto.. 43
- Figura 3.** Histologia do fígado. A) Animal controle. B) Animal 2, após 365 dias de ingestão de 0,6 g/kg de sementes de *Crotalaria retusa* C) Animal 5, depois de 365 dias de ingestão de 0,05 g/kg de sementes de *C. retusa*. D) Animal 6, após 365 dias de ingestão de 0,025 g/kg de sementes de *C. retusa*, H-E, x20..... 44
- Figura 4.** Pulmão. Animal 8. A) Superfície do pulmão apresentando nódulos pálidos e áreas de enfisema e atelectasia. B) O parênquima pulmonar mostrando nódulos esbranquiçados, coalescentes. C) Bronquíolos terminais mostrando a proliferação de células Clara (seta). Edema (*) e células inflamatórias são observados dentro de alvéolos. H & E, x10. D) São observados nódulos de células Clara (setas), tecido fibroso (FT) e edema (*) dentro de alvéolos, H-E, x20..... 46
- Figura 5.** Pulmão. Microscopia eletrônica. A) Proliferação intersticial de células Clara. Há uma diminuição notável do número de grânulos típicos de células Clara (setas) e ausência de grânulos são vistas em algumas células. Na porção central do nódulo, células necróticas (seta branca) e um eritrócito (asterisco) são vistos. O nódulo é rodeado por tecido conjuntivo. Bar = 10 um. B) Um espaço vazio é cercado por proliferação de células Clara. Alguns grânulos são vistos em algumas células (setas). Note-se a ausência de células ciliadas. Bar = 10 um. C) Proliferação de células

musculares lisas na fronteira do nódulo. Célula em corte oblíquo apresenta uma lâmina basal proeminente (seta curta), numerosas vesículas picnóticas (seta), feixes de material fibrilar (asterisco), corpos densos (cabeças de seta) e microtúbulos (seta curva). Bar = 1 μm 47

CAPÍTULO III

Pág.

- Figura 1.** *Marsdenia hilariana*. Município de Soledade, Estado da Paraíba, Nordeste, Brasil. A) Partes aéreas; B) Raízes; C) Cápsula; D) Planta completa..... 59
- Figura 2.** *Marsdenia megalantha*. Município de Jardim do Seridó, Estado do Rio Grande do Norte, Nordeste, Brasil. A) Partes aéreas; B) Flores; C) Cápsula; D) Raízes..... 59
- Figura 3.** *Marsdenia* aff. *zehntneri* Fontella. Município de Quixeramobim, Estado do Ceará, Nordeste, Brasil..... 64

Lista de tabelas

Capítulo II	Pág.
Tabela 1. Intoxicação experimental por sementes de <i>Crotalaria juncea</i> e <i>Crotalaria retusa</i> em asininos.....	49
Capítulo III	
Tabela 1. Intoxicação experimental com raízes de <i>Marsdenia hilariana</i> em caprinos.....	61
Tabela 2. Intoxicação experimental por <i>Marsdenia megalantha</i> em ovinos.....	63

Sumário

Introdução	10
CAPÍTULO	Importância econômica, epidemiologia e controle das	
I	intoxicações por plantas no Brasil	11
	Abstract.....	12
	Resumo.....	13
	Introdução	14
	Impacto econômico das intoxicações por plantas.....	14
	Principais plantas tóxicas.....	16
	Epidemiologia das intoxicações por plantas.....	17
	Controle e profilaxia das intoxicações por plantas.....	21
	Referências.....	27
CAPÍTULO	Lesões pulmonares e hepáticas em asininos causadas pelos	
II	alcaloides dehidropirrolizidínicos de <i>Crotalaria juncea</i> e	
	<i>Crotalaria retusa</i>	34
	Abstract.....	35
	Resumo.....	36
	Introdução.....	37
	Material e Métodos.....	39
	Resultados.....	41
	Discussão.....	50
	Referências.....	52
CAPÍTULO	Intoxicação por <i>Marsdenia hilariana</i> e <i>M. megalantha</i> em	
III	ruminantes.....	56
	Abstract.....	57
	Resumo.....	57
	Introdução.....	58
	Intoxicação por <i>Marsdenia hilariana</i>	60
	Intoxicação por <i>Marsdenia megalantha</i>	62
	Discussão.....	63
	Referências.....	65
Conclusões	67

INTRODUÇÃO

As intoxicações por plantas em animais de produção são conhecidas no Brasil desde a introdução dos primeiros bovinos pelos pioneiros portugueses em pastagens brasileiras. As perdas ocasionadas pelas intoxicações por plantas ocasionam impacto negativo na pecuária. As perdas diretas incluem morte de animais, redução do desempenho reprodutivo (abortos, infertilidade, malformações) e da produção (leite, carne ou lã) dos animais sobreviventes, bem como de outras alterações ou doenças intercorrentes devidas ao aumento da susceptibilidade pela depressão imunológica. As perdas indiretas são associadas com custos de controle das plantas tóxicas nas pastagens, medidas de manejo para evitar as intoxicações (construção de cercas e pastoreio alternativo), compra de rebanho para substituir os animais mortos e os custos do diagnóstico das intoxicações e do tratamento dos animais afetados.

O impacto causado pelas intoxicações por plantas na pecuária justifica o desenvolvimento de um grande número de pesquisas nas últimas décadas para caracterizar a epidemiologia e desenvolver tecnologias de controle e profilaxia dessas intoxicações. Esta Tese é composta de capítulos referentes a três artigos originais, um deles consiste numa revisão atualizada da literatura científica que trata dos aspectos epidemiológicos e de controle das intoxicações por plantas no Brasil. O segundo artigo trata de um experimento conduzido com o objetivo de avaliar os efeitos dos alcaloides dihidropirrolizidínicos presentes nas sementes de *C. juncea* e *C. retusa* em asininos e o último foi produzido a partir de observações de intoxicações espontâneas, com reprodução experimental, em ruminantes por plantas do gênero *Marsdenia* no semiárido nordestino.

CAPÍTULO I

Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil

Artigo submetido à Revista Pesquisa Veterinária Brasileira

Tópico de Interesse Geral

Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil¹

Clarice R.M. Pessoa², Rosane M.T. Medeiros² e Franklin Riet-Correa^{2*}

ABSTRACT.- Pessoa C.R.M., Medeiros R.M.T & Riet-Correa F. 2013 [**Economic impact, epidemiology and control poisonous plants in Brazil.**] Importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* X(X):X-X. Hospital Veterinário, Universidade Federal de Campina Grande, CSTR, Patos, PB 58700-310, Brasil. E-mail: franklin.riet@pq.cnpq.br

The economic impact, epidemiology and control of plant poisonings in Brazil are reviewed. With the data obtained from diagnostic laboratories from different Brazilian regions, annual losses due to animal deaths are estimated in approximately 820.761 to 1.755.763 cattle, 399.800 to 445.309 sheep, 52.675 to 63.292 goats, and 38.559 horses. In Brazil toxic plants include 131 species within 79 genera, but this number is increasing continuously. However, most economic losses are caused by few plants including *Palicourea marcgravii*, *Amorimia rigida*, *Senecio* spp., *Pteridium aquilinum*, *Ateleia glazioviana* and *Cestrum laevigatum* in cattle, *Brachiaria* spp. in cattle and sheep, *Nierembergia veitchii* and *Ipomoea asarifolia* in sheep, swainsonine-containing plants (*Ipomoea carnea*, *Turbina cordata* and *Sida carpinifolia*) in goats, and *Brachiaria humidicola* and *Crotalaria retusa* in horses. The main factors that determine the occurrence and frequency of plant poisoning

¹ Recebido para publicação em...

Aceito para publicação em...

²Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, (UFCG) Patos, PB 58700-310 , Brasil.

*Autor para correspondência: franklin.pq@cnpq.edu.br

include palatability, hunger, thirst, social facilitation, unawareness of the plant, access to toxic plants, toxic dose, ingestion period, variations in toxicity, and animal resistance/susceptibility. The results obtained in Brazil with the use of biological control, conditioned food aversion, selection of non-toxic varieties of forages, use of resistant animals to poisoning, and techniques to induce resistance are described.

INDEX TERMS: Poisonous plants control, economic impact, epidemiology resistance, conditioned food aversion, biologic control.

RESUMO.- A importância econômica, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas em animais domésticos no Brasil são revisadas. Com os dados dos laboratórios de diagnóstico de diferentes regiões do país, as perdas anuais por mortes de animais foram estimadas em 820.761 a 1.755.763 bovinos, 399.800 a 445.309 ovinos, 52.675 a 63.292 caprinos e 38.559 equinos. No Brasil, atualmente, o número de plantas tóxicas é de 131 espécies e 79 gêneros e aumenta permanentemente. No entanto, a maioria das perdas são causadas por poucas plantas, incluindo *Palicourea marcgravii*, *Amorimia rigida*, *Senecio* spp., *Pteridium aquilinum*, *Ateleia glazioviana* e *Cestrum laevigatum* em bovinos, *Brachiaria* spp em bovinos e ovinos, *Nierembergia veitchii* e *Ipomoea asarifolia* em ovinos, plantas que contêm swainsonina (*Ipomoea carnea*, *Turbina cordata* e *Sida carpinifolia*) em caprinos e *Brachiaria humidicola* e *Crotalaria retusa* em equinos. Os principais fatores epidemiológicos relacionados às intoxicações por plantas incluem palatabilidade, fome, sede, facilitação social, desconhecimento da planta, acesso a plantas tóxicas, dose tóxica, período de ingestão, variações de toxicidade e resistência/susceptibilidade dos animais às intoxicações. Quanto aos métodos de controle e profilaxia descrevem-se os resultados obtidos no Brasil com métodos recentemente desenvolvidos, incluindo controle biológico, aversão alimentar condicionada,

utilização de variedades não tóxicas de forrageiras, utilização de animais resistentes às intoxicações e técnicas de indução de resistência.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Controle de plantas tóxicas, impacto econômico, resistência, epidemiologia, aversão alimentar condicionada, controle biológico.

INTRODUÇÃO

No Brasil, devido a grande extensão territorial, na maioria dos estabelecimentos os animais de produção são criados em pastagens nativas ou cultivadas, em sistema extensivo ou semiextensivo. Essa característica promove maior acesso dos animais às plantas tóxicas e explica, em parte, o número crescente de registros de surtos de intoxicações por plantas em animais de produção no país. O impacto negativo causado pelas intoxicações por plantas na pecuária justifica o desenvolvimento nas últimas décadas de um grande número de pesquisas para caracterizar a epidemiologia e desenvolver tecnologias de controle e profilaxia dessas intoxicações. O objetivo desse trabalho é apresentar uma revisão atualizada das perdas econômicas, epidemiologia e controle das intoxicações por plantas no Brasil.

IMPACTO ECONÔMICO DAS INTOXICAÇÕES POR PLANTAS

As perdas econômicas causadas pelas intoxicações por plantas são difíceis de estimar devido à escassez de dados. No entanto, as perdas causadas pela morte dos animais são facilmente estimadas através da análise dos dados elaborados por laboratórios de diagnóstico veterinário, sobre as causas de mortes dos animais, nas suas respectivas áreas de abrangência.

No Brasil, de uma população de 221.827.299 bovinos (IBGE 2012) pelo menos 5% (11.091.365) morre anualmente por diferentes causas. Considerando os dados dos laboratórios de diagnóstico de diferentes regiões, entre 7,4% e 15,83% dessas mortes (entre 820.761 e

1.755.763 bovinos) são causadas por plantas tóxicas (Riet-Correa & Medeiros 2001, Pedroso et al. 2007, Rissi et al. 2007, Casagrande et al. 2008, Assis et al. 2010). A população de equinos no Brasil é de 5.508.546 cabeças (IBGE 2012), levando em consideração uma mortalidade semelhante à de bovinos (5%), calcula-se que anualmente morrem 275.427 equinos. Considerando que 14% dos equinos morrem intoxicados por plantas (Assis et al. 2010), estima-se que 38.559 equinos morrem anualmente por essa causa.

O rebanho de ovinos no Brasil é de 17.662.201 cabeças (IBGE 2012). A expectativa de mortalidade anual nesta espécie é de 18,27% (Lôbo 2002), isso significa uma mortalidade anual de 3.226.884 ovinos. Considerado os dados de diagnóstico de diferentes Estados (Pedroso et al. 2007, Borelli et al. 2008, Assis et al. 2010) é possível considerar que anualmente morrem de intoxicação por plantas entre 11,46% e 13,8% do rebanho ovino, ou seja de 399.800 a 445.309 animais. Para caprinos a taxa de mortalidade no Brasil é estimada em 8,77 % (Lôbo 2002) e como a população de caprinos no país é de 9.384.894 animais (IBGE 2012), estima-se que 823.055 caprinos morrem anualmente. Considerando que 6,4% a 7,69 % destas mortes são causadas por plantas tóxicas (Assis et al. 2010, Pedroso et al. 2007), pode-se estimar que o número de caprinos que morrem por esta causa é de 52.675 a 63.292.

Os valores sobre perdas reprodutivas causadas por abortos, infertilidade e malformações associadas ao consumo de plantas tóxicas também são raramente obtidos. Estudos na região semiárida indicam que malformações causadas pela ingestão de *Mimosa tenuiflora* são frequentes em ruminantes. Considerando que 10% das mortes neonatais em caprinos (Medeiros et al., 2005) e 23% em ovinos (Nóbrega et al., 2005) são devido a malformações, estima-se que anualmente morrem por esta causa, na região semiárida 273.120 cabritos e 259.582 cordeiros (Riet-Correa et al. 2007).

PRINCIPAIS PLANTAS TÓXICAS

No Brasil, o número de plantas conhecidas como tóxicas para ruminantes e equinos aumenta continuamente. Em 1990, Tokarnia et al. (1990) mencionam a existência de 60 espécies tóxicas. Em 2000, eram conhecidas 90 espécies pertencentes a 52 gêneros (Riet-Correa & Medeiros, 2001). Em 2004 este número aumentou para 113 espécies e 64 gêneros (Riet-Correa et al., 2007); em 2008, 122 espécies e 71 gêneros (Riet-Correa et al. 2009) e, em 2012, 131 espécies e 79 gêneros (dados não publicados).

Apesar das numerosas plantas tóxicas descritas no Brasil, há algumas que são mais importantes, sendo responsáveis pela maioria das perdas econômicas. *Senecio* spp. é responsável por 50,7% a 56,14% das mortes de bovinos causadas por plantas tóxicas no Rio Grande do Sul (Riet-Correa & Medeiros 2001, Rissi et al. 2007). Em ovinos, na região sul desse mesmo Estado, *Nierembergia veitchii* representa 77.8% das mortes causadas por plantas tóxicas (Riet-Correa & Medeiros 2001). *Ateleia glazioviana* é, provavelmente, a principal causa de abortos em bovinos em Santa Catarina e norte do Rio Grande do Sul (Riet-Correa et al. 2007). *Pteridium aquilinum* é a principal planta tóxica de Santa Catarina, responsável pela morte de 7,16% dos bovinos necropsiados (Gava et al. 2002) e por 44,44% das mortes causadas por plantas tóxicas em bovinos (Borelli et al. 2008); a planta também é importante no norte do Rio Grande do Sul, Paraná e na região Sudeste. *Amorimia (Mascagnia)* spp. e *Mimosa tenuiflora* são, provavelmente, as principais plantas tóxicas da região Nordeste; no entanto, mesmo causando mortalidade baixa, *Ipomoea asarifolia* é a planta que causa maior número de intoxicações em ruminantes na região Nordeste e na Ilha de Marajó.

Estima-se que as plantas que causam morte súbita são responsáveis por 50% das mortes por plantas em bovinos no Brasil. Deste grupo, *Palicourea marcgravii* é a mais importante, causando perdas econômicas severas em todo o país, exceto nos estados da região Sul, no semiárido do Nordeste e no Mato Grosso do Sul. Outras plantas importantes que

causam morte súbita em bovinos são *Arrabidaea bilabiata* e *Arrabidaea japurensis* na região Norte (Tokarnia et al. 1990).

Severas perdas econômicas são causadas pelas intoxicações por *Brachiaria* spp. em bovinos e ovinos, principalmente nas regiões Centro-Oeste e Sudeste. Nos Estados de Rio de Janeiro e Espírito Santo, a planta tóxica mais importante é *Cestrum laevigatum* (Tokarnia et al. 2002). *Brachiaria humidicola* e *Crotalaria retusa* são as principais plantas tóxicas para equinos no Brasil sendo que *C. retusa* causa intoxicações apenas no semiárido brasileiro. As plantas tóxicas mais importantes para caprinos são as que contêm swainsonina: *Ipomoea carnea* no Nordeste e Ilha de Marajó; *Turbina cordata* no Nordeste; e *Sida carpinifolia* no Sul e Sudeste.

EPIDEMIOLOGIA DAS INTOXICAÇÕES POR PLANTAS

Os fatores identificados no Brasil como desencadeadores ou facilitadores das intoxicações por plantas são mencionados a seguir.

Palatabilidade. A palatabilidade é definida como a aceitação do sabor dos alimentos. Nas pastagens brasileiras há muitas plantas extremamente palatáveis que causam intoxicação, algumas delas são nativas (*Palicourea* spp.) outras são cultivadas como forrageiras (*Trifolium* spp. *Brachiaria* spp. e *Vicia* spp.) e outras são invasoras (*Amaranthus* spp.). No entanto, devemos considerar que animais que não ingerem uma determinada planta podem iniciar a ingeri-la pelo mecanismo de facilitação social. Alguns surtos de intoxicação por plantas ocorrem após a aplicação de herbicidas, o que as torna mais palatáveis.

Facilitação social. Este é, também, um fator muito importante para determinar a ingestão de plantas não palatáveis. Algumas plantas, que normalmente não são ingeridas, podem ser ingeridas por alguns animais em condições de carência de forragem e estes gradualmente induzem outros animais da mesma espécie a ingeri-las. Esse tipo de comportamento,

denominado facilitação social, tem sido observado com *Ipomoea carnea*, *Turbina cordata* e *Jatropha ribifolia* no Nordeste (Riet-Correa et al. 2011a).

Fome. A produção de substâncias que reduzem a palatabilidade é um mecanismo de defesa das plantas para reduzir a herbivoria (Cheeke & Shull 1985). No entanto, a fome é um dos fatores que fazem com que o animal ingira plantas de menor palatabilidade. A fome nos rebanhos é resultante de longos períodos de estiagem, invernos rigorosos ou de privação de alimentos por alta lotação ou transporte. A presença de plantas verdes, não palatáveis, em situações de carência de forragem favorece a sua ingestão, como acontece com a *Tephrosia cinerea*, no Nordeste ou com *Senecio* spp., no Sul.

Sede. O consumo de água após longo período de privação hídrica reduz a capacidade de seleção dos animais, podendo ingerir plantas que anteriormente não ingeriam (Schuster 1978). Este é um fator importante, principalmente após transportes quando os animais podem passar longos períodos sem beber.

Brotação após as primeiras chuvas. Na região semiárida, imediatamente após as primeiras chuvas do período chuvoso ou mesmo durante o período seco, quando ocorrem precipitações escassas, algumas plantas brotam rapidamente enquanto que outras permanecem sem brotação. Isso faz com que haja uma oferta de poucas plantas verdes, entre elas algumas tóxicas como *Thiloa glaucocarpa*, *Mimosa tenuiflora* e *Turbina cordata*.

Desconhecimento. Algumas plantas são ingeridas somente por animais que as desconhecem, por terem sido criados em locais onde não existem as mesmas. A planta mais conhecida que tem esta epidemiologia é a *Baccharis coridifolia*. Animais adultos criados em regiões onde a planta ocorre não a ingerem, mesmo em condições extremas de fome. No caso de *B. coridifolia* foi demonstrado que a planta ao ser ingerida em quantidades não tóxicas causa aversão, que é permanente, pelo menos em animais que permanecem em áreas onde a planta ocorre (Almeida et al. 2013).

Acesso às plantas tóxicas. Alguns árvores ou arbustos como *Myoporum laetum* e muitas plantas cianogênicas (*Anadenanthera colubrina* var *cebil*, *Prunus* spp., *Manihot* spp. *Cnidioscolus quercifolius*) normalmente não são consumidas ou são consumidas em quantidades não tóxicas. Quando a planta é cortada, podada ou ramos se quebram com o vento os animais podem ingerir altas doses em pouco tempo. Este fator explica a crença muito difundida no Nordeste de que muitas plantas são mais tóxicas quando murchas. Na verdade, quando cortadas as plantas murcham, mas não é esse fator que determina a intoxicação e sim o fato de que os animais têm acesso a maiores quantidades do que quando a planta está íntegra. Outro exemplo é a exposição das raízes de *Marsdenia hilariana*, que são mais palatáveis do que as folhas, que pode ocorrer em solos com erosão e quando o terreno é arado para outros fins. Uma situação semelhante ocorre com *Nerium oleander*, cujas folhas não são consumidas no arbusto, mas sim quando após podas as folhas são administradas aos animais, muitas vezes misturadas com outras plantas que também foram podadas ou cortadas. No Nordeste, nas épocas de estiagem, numerosas intoxicações ocorrem quando os produtores cortam diferentes plantas, incluindo algumas que são tóxicas e normalmente não são ingeridas pelos animais, e as administram aos mesmos, geralmente misturadas a outras plantas e passadas na forrageira.

Dose tóxica. A quantidade da planta necessária para causar intoxicação é muito variável entre as espécies vegetais. Há plantas extremamente tóxicas, como as do gênero *Palicourea* (0,50-0,75 g/kg) ou *B. coridifolia* (0,25 a 0,5 g/kg no outono). Outras plantas devem ser ingeridas em grandes quantidades como é o caso de *Nierembergia veitchii* (acima de 440g/kg) ou causam intoxicação somente quando constituem a totalidade ou a maior parte da dieta, como é o caso de *Brachiaria* spp. e algumas leguminosas como *Trifolium* spp. e *Vicia* spp.

Período de ingestão. Algumas plantas podem causar intoxicações após uma única ingestão, como as plantas cianogênicas, as leguminosas que causam meteorismo e *B. coridifolia*. Outras

têm que ser ingeridas por períodos mais ou menos prolongados como é o caso de *Pteridium aquilinum*, *Nierembergia veitchii* e leguminosas que causam estrogenismo.

Variações de toxicidade. Podem existir variações de toxicidade dentro de uma mesma espécie devido a fatores como variabilidade genética, fase de desenvolvimento, tipo de solo, armazenamento e parte da planta que foi consumida. Algumas plantas, como *Senecio* spp., são mais tóxicas durante a sua fase de crescimento, outras como *B. coridifolia* são mais tóxicas durante a floração, enquanto que outras apresentam toxicidade somente em determinada fase, como é o caso de *Amaranthus* spp. durante a frutificação e *Sorghum* spp., na fase de brotação. Algumas plantas como *Lantana* spp. podem apresentar variações de toxicidade entre variedades de uma mesma espécie, ocorrendo toxicidade somente em algumas variedades. Outras como *Cestrum parqui* e *Echium plantagineum*, apresentam grandes variações de toxicidade.

Susceptibilidade/Resistência. Há variações marcadas na susceptibilidade dos animais às intoxicações, como espécie, idade, sexo, resistência individual e resistência adquirida. A resistência, seja mediante a seleção de animais resistentes ou mediante a indução de resistência por diferentes técnicas, pode ser empregada no controle de algumas intoxicações.

Transporte. Algumas intoxicações, como a causada por *Lantana* spp., ocorrem principalmente em animais transportados, enquanto que animais do local não ingerem a planta. Certamente que alguns dos fatores acima mencionados (fome, sede, desconhecimento) são importantes para a ocorrência de intoxicações em animais transportados, mas existem, provavelmente, outros fatores associados ao transporte que influenciam a ocorrência das intoxicações.

CONTROLE E PROFILAXIA DAS INTOXICAÇÕES POR PLANTAS

A profilaxia e o controle das intoxicações por plantas no Brasil têm se realizado com base no conhecimento da epidemiologia das mesmas. Algumas medidas preventivas incluem: (1) o manejo dos animais e das pastagens, incluindo evitar o pastejo excessivo, utilizar animais de espécies ou idades resistentes a determinadas plantas e evitar colocar animais recentemente transportados com fome ou sede em pastagens contaminadas por plantas tóxicas; (2) a construção de cercas para isolar áreas infestadas por plantas tóxicas; (3) a eliminação das espécies tóxicas pela retirada manual, utilização de herbicidas, roçadas, capinas, aração, queimadas ou pelo pastejo com animais não susceptíveis; (4) a utilização de sementes controladas para evitar a difusão de espécies tóxicas; (5) a confecção de feno e silagem cuja contaminação por espécies tóxicas seja evitada; e (6) dispor de reservas de forragem para evitar a carência alimentar durante a seca (Riet-Correa et al. 1993, Riet-Correa & Méndez 2007, Tokarnia et al. 2012).

Considerando que essas medidas têm apresentado resultados limitados, no Brasil foi criado um projeto interdisciplinar e interinstitucional para o desenvolvimento de técnicas de controle das intoxicações por plantas, financiado pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT para o Controle de Intoxicações por Plantas). A seguir são mencionadas algumas das tecnologias desenvolvidas por esse projeto:

Controle integrado da intoxicação por *Brachiaria* spp. Considerando o estágio e a espécie de *Brachiaria*, a espécie e a idade dos animais e a possível experiência prévia dos mesmos em pastagens dessa gramínea é possível controlar a intoxicação por *Brachiaria* spp. Entre os conhecimentos gerados até agora no Brasil sabe-se que: os bovinos são mais resistentes que os ovinos e que animais jovens são mais susceptíveis (Souza et al. 2010, Riet-Correa et al. 2011b); ovinos criados em pastagens de *Brachiaria* spp. são mais resistentes do que os criados em outras pastagens e possivelmente essa resistência é de origem genética (Castro et

al. 2011, Aniz 2008); pelo menos entre búfalos e ovinos há animais resilientes, ou seja apresentam alterações hepáticas sem sinais clínicos (Riet-Correa et al. 2010, Castro et al. 2011, Riet-Correa et al. 2011b). Quanto ao gênero *Brachiaria* sabe-se que a concentração de saponinas é maior no período de brotação, embora casos de intoxicação já tenham sido descritos em todos os estágios de desenvolvimento. Estima-se que a protodioscina, principal saponina litogênica, quando presente em níveis de 1% nas pastagens de *Brachiaria* spp. é tóxica para ovinos oriundos de outras pastagens (Riet-Correa et al. 2011b), mas até o momento não se conhece a concentração de saponinas tóxica para bovinos. *B. decumbens* é a espécie mais tóxica, seguida de *B. brizantha* e *B. ruziziensis*, enquanto que *B. humidicola*, que causa intoxicação quase que exclusivamente em cavalos, é a menos tóxica (Barbosa-Ferreira et al. 2011). A longo prazo as duas medidas mais eficientes para o controle da mesma deverão ser a utilização de espécies e variedades com baixos teores de saponinas e o pastoreio com animais resistentes.

Controle biológico. Os ovinos apresentam baixa susceptibilidade aos efeitos crônicos dos alcaloides pirrolizidínicos e o pastoreio por ovinos em áreas invadidas por *Senecio* spp. tem sido uma prática recomendada para o controle da intoxicação. Alguns estudos têm sido conduzidos para determinar as melhores metodologias a serem empregadas no controle biológico de *Senecio* spp com ovinos. Uma lotação permanente de 0,5 ovinos por hectare (ha) mantém controlada a população de *Senecio* spp. (Soares et al. 2000) e o pastejo misto com 3 ovinos por ha e 0 a 2,7 bovinos/ha controlou totalmente a população de *S. brasiliensis* e *S. madagascariensis* em um prazo de dois anos (Bandarra et al. 2012). No Rio Grande do Sul em uma área severamente invadida por *Senecio brasiliensis*, *Senecio heterotrichius* e *Senecio selloi*, uma lotação de oito ovinos/ha controlaram a planta em um período de 6 meses (Schild 2008).

É possível realizar o controle biológico de plantas através do uso de fitopatógenos como insetos e outros patógenos de plantas. *Senecio jacobea* foi controlado nos Estados Unidos pela liberação de três insetos: *Tyria jacobeeae*, *Longitarsus jacobeeae* e *Pegohylemia seneciella* (Coombs et al. 1997). Observações das populações de *S. brasiliensis* em campos nativos revelaram a presença de diversos insetos causando danos em plantas dessa espécie, alimentando-se tanto das folhas como do caule, entre eles principalmente o *Phaedon confinis* em sua fase larval e adulta. A especificidade de *P. confinis* para plantas de *S. brasiliensis* foi comprovada em testes laboratoriais, demonstrando que alimentação normal, oviposição, sobrevivência e desenvolvimento estão restritos ao *S. brasiliensis*. O fato de *P. confinis* ser suficientemente específico para não constituir risco para outras plantas justifica a continuação das pesquisas para utilizar este inseto no controle biológico de *Senecio brasiliensis* (Milléo et al. 2010).

Após a verificação experimental de que a administração diária continuada de doses não tóxicas de sementes de *C. retusa* induz resistência à monocrotalina em ovinos (Anjos et al. 2010), animais sobreviventes a um surto de intoxicação aguda por sementes de *C. retusa* foram mantidos no local do surto. Em três anos de pastoreio continuado os ovinos extinguiram as plantas de *C. retusa* da área, demonstrando que a introdução gradual de ovinos em pastos invadidos por *C. retusa* poderá ser utilizada como modelo de controle biológico de *Crotalaria* spp. (Riet-Correa et al. 2011c).

Aversão alimentar condicionada. Uma técnica empregada no controle das intoxicações por plantas é a aversão alimentar condicionada. Consiste na administração de cloreto de lítio (LiCl) através de sonda ruminal, imediatamente após a ingestão da planta que se quer evitar o consumo. Em experimentos recentes, realizados em caprinos para testar a aversão alimentar condicionada como forma de controle da intoxicação por *I. carnea* subsp. *fistulosa*, foi demonstrado que caprinos recém adaptados à ingestão da planta, submetidos ao tratamento

aversivo através da administração de LiCl (200 mg/kg), logo após a ingestão voluntária da planta, não a ingeriram por pelo menos dois anos e oito meses (Oliveira et al., 2010, 2013a). No entanto, se os animais avertidos convivem com animais não avertidos que ingerem a planta, a aversão desaparece rapidamente (Pimentel et al. 2012) e caprinos provenientes de propriedades em que existe a planta, com sinais clínicos da intoxicação, e que têm o hábito de ingerir a planta por longos períodos, não respondem ao tratamento aversivo (Oliveira et al. 2010, 2013a).

Em um estudo realizado com a finalidade de controlar a intoxicação por *Turbina cordata* em caprinos, em propriedades onde estava ocorrendo a doença, foi demonstrado que a técnica de aversão alimentar, administrando LiCl (175mg/kg), a cada dois meses, aos animais que ingerem a planta espontaneamente, é eficiente e viável para o controle dessa intoxicação (Pimentel et al. 2012). No entanto, para o controle da intoxicação por *I. carnea* subsp. *fistulosa*, a técnica impediu a ingestão da planta somente durante a época de chuva, mas não durante a seca, quando há pouca disponibilidade de forragem (Pimentel et al. 2012). *T. cordata*, diferentemente de *I. carnea* subsp. *fistulosa*, é uma planta que desaparece durante a época seca e rebrota após as primeiras chuvas, de forma que, se os animais têm outras forragens à disposição quando a planta está presente, é mais fácil manter a aversão.

Baccharis coridifolia (mio-mio) é uma planta tóxica comum no Rio Grande do Sul que causa aversão natural ao seu próprio consumo, fazendo com que os animais criados em pastagens contendo a planta não a ingiram. Em experimentos com bovinos foi comprovado que mio-mio causa aversão eficiente quando administrado 25% da dose tóxica e se os animais são soltos em pastagens invadidas pela planta pelo menos 24 horas após a ingestão não se intoxicam. Animais soltos antes desse período não estão ainda fortemente avertidos e podem intoxicar-se (Almeida et al. 2013). Trabalhos estão sendo conduzidos para verificar se é possível causar aversão a *I. carnea* utilizando o mio-mio como aversivo (Adrien et al. 2013).

Em outros experimentos tem sido induzida com sucesso aversão condicionada a *Amorimia (Mascania) rigida* em caprinos (Barbosa et al. 2008) e ovinos (Pacífico da Silva & Soto-Blanco 2010) e a *Palicourea aeneofusca* em caprinos (Oliveira et al. 2013b). Experimentos para induzir aversão a *Leucaena leucocephala*, que é uma planta palatável, induziram redução parcial do consumo, pois os animais continuaram a ingerir a planta em pequenas quantidades (Górniak et al. 2008).

Os resultados de todos estes experimentos mostram que a técnica de aversão condicionada pode ser utilizada no controle e profilaxia da intoxicação de algumas plantas tóxicas. No entanto, o conhecimento das condições epidemiológicas é importante para determinar a forma de aplicação da técnica e o provável sucesso da mesma, que depende da disponibilidade de forragem, conhecimento prévio da planta por parte dos animais e idade dos mesmos.

Resistência às intoxicações por plantas. Este é um fator importante a ser considerado no controle das intoxicações. Já foi mencionada neste trabalho a resistência à intoxicação por *Brachiaria* spp. Em um experimento com *Crotalaria retusa* foi demonstrado que doses únicas de sementes de 3-4 g/kg causam intoxicação aguda em ovinos, enquanto que doses diárias repetidas de 2 g/kg induzem resistência à doses únicas de até 10 g/kg. A resistência a intoxicação por *C. retusa*, adquirida pela ingestão de doses não tóxicas, está provavelmente associada a uma adaptação do sistema P450 do fígado (Anjos et al. 2010). Foi demonstrado, também, que animais que adquirem esta resistência a perdem rapidamente, em pouco mais de uma semana (Maia et al. 2013). Uma situação semelhante ocorre com *Senecio brasiliensis* em ovinos que ingerindo diariamente doses não tóxicas continuadas adquirem resistência a doses tóxicas (Grecco et al. 2012). A ingestão de pequenas doses consecutivas de favas de *Enterolobium cotortisiliquum* também induz resistência (Tokarnia et al. 1999) e permite que ovinos e caprinos que permanecem em áreas onde ocorre a planta, ingerindo as favas, durante

todo o período de frutificação, sem apresentar sinais clínicos (Riet-Correa F., dados não publicados).

Outro tipo de resistência que está sendo estudado é a utilização de bactérias que hidrolisam monofluoroacetato de sódio (MFA) para o controle de intoxicações por plantas com este princípio ativo. Essa resistência está associada, aparentemente, com bactérias que contém dehalogenases que hidrolisam MFA. Em um trabalho recente com o isolamento de bactérias que degradam MFA de rúmen de caprinos no Nordeste, foi sugerido que essas bactérias já existem no rúmen e que alimentação contendo o substrato estimula a sua multiplicação (Camboim et al. 2012) o que poderia explicar o fato que animais mantidos em áreas com *Amorimia (Mascagnia) rigida* são mais resistentes do que os mantidos em áreas livres da planta (Silva et al. 2008). Também foi demonstrado que a administração de pequenas quantidades de folhas frescas de *Amorimia (Mascagnia) septentrionalis* (Duarte et. al. 2013) e *Palicourea aeneofusca* (Oliveira et al. 2013c) induzem resistência parcial em caprinos e que animais que recebem líquido ruminal de animais resistentes adquirem resistência semelhante.

Oliveira et al. (2013c) sugerem que há três possibilidades a serem exploradas para o controle de plantas que contém MFA mediante o aumento da resistência dos animais: 1) a administração repetida, por períodos alternados, de doses não tóxicas da planta; 2) a administração de MFA em doses não tóxicas o que permitiria, também, a proliferação de bactérias que tenham atividade de dehalogenases; e 3) a administração de outro substrato, não tóxico, que estimule a proliferação de bactérias com atividade de dehalogenases. Considerando as dificuldades de administrar doses não tóxicas das plantas e o risco de trabalhar com MFA a terceira possibilidade pareceria a mais adequada.

Agradecimentos.- Este trabalho foi financiado pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INCT) Para o estudo do Controle das Intoxicações por Plantas.

REFERÊNCIAS

- Adrien M.L, Riet-Correa G., Oliveira C.A., Pfister J.A., Cook D., Souza E.E.G., Riet-Correa F. & Schild A.L. 2013. Conditioned aversion to *Ipomoea carnea* var. *fistulosa* induced by *Baccharis coridifolia* in goats. Em preparação.
- Almeida M.B., Schild A.L., Brasil N.A., Quevedo P.S., Fiss L., Pfister J.A. & Riet-Correa F. 2009. Conditioned aversion in sheep induced by *Baccharis coridifolia*. Appl. An. Behav. Scien. 117:197-200.
- Almeida M.B. Schild A.L., Pfister J.A., Brasil N.A., Pimentel M., Forster K.M. & Riet-Correa F. 2013. Methods of inducing conditioned food aversion to *Baccharis coridifolia* (miomio) in cattle. Ciência Rural (submetido).
- Aniz A.C.M. 2008. Efeito da adaptação ao consumo de *Brachiaria decumbens* e a existência de resistência ou susceptibilidade individual em ovinos à intoxicação. Monografia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS. 31p.
- Anjos B.L., Nobre V.M.T., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T., Oliveira Neto T., Molyneux R.J., & Riet-Correa F. 2010. Poisoning of sheep by seeds of *Crotalaria retusa*: Acquired resistance by continuous administration of low doses. Toxicon 55: 28-32.
- Assis T.S., Medeiros R.M.T., Riet-Correa F., Galiza G.J.N., Dantas A.F.M. & Oliveira D.M. 2010. Intoxicações por plantas diagnosticadas em ruminantes e equinos e estimativa das perdas econômicas na Paraíba. Pesq. Vet. Bras. 30(1):13-20.
- Bandarra P.M., Oliveira L.G., Dalto A.G., Boabaid F.M., Juffo G., Riet-Correa F., Driemeier D. & Cruz C.E.F. 2012. Sheep production as a *Senecio* spp. control tool. Pesq. Vet. Bras. 32(10):1017-1022.
- Barbosa R.R., Pacífico da Silva I., & Soto-Blanco B. 2008. Development of conditioned taste aversion to *Mascagnia rigida* in goats. Pesq. Vet. Bras. 28(12):571-574.

- Barbosa-Ferreira M.B., Brum K.B., Oliveira N.M.R., Valle C.B., Ferreira V.B.N., Garcez V., Riet-Correa F. & Lemos R.A.A. 2011. Concentração da saponina esteroideal protodioscina em diferentes espécies e cultivares de *Brachiaria* spp. Vet. e Zootec.18(Supl. 3):580-583.
- Borelli V., Zandonai A., Furlan F., Traverso, S.D. & Gava A. 2008. Intoxicação por Plantas diagnosticadas em bovinos pelo Laboratório de Patologia Animal/CAV/UEDESC. Anais, 3º Endivet, Campo Grande, MS, p. 59-60.
- Camboim E.K.A., Almeida A.P., Tadra-Sfeir M.Z., Garino Junior F., Andrade P.P., McSweeney C.S., Melo M.A., Riet-Correa F. 2012. Isolation and identification of sodium fluoroacetate degrading bacteria from caprine rumen in Brazil. Scientif. World J. Article ID 178254, 6 pages. doi:10.1100/2012/178254.
- Casagrande R.A., Mazzocco M.B., Frizon R., Lentz D., Traverso S.D. & Gava A. 2008. Doenças de bovinos diagnosticadas pelo Laboratório de Patologia Animal CAV/UEDESC de janeiro de 2000 a abril de 2008. Anais do 3º Endivet, Campo Grande, MS, p.55-56.
- Castro M.B., Santos Jr. H.L., Mustafa V.S., Gracindo C.V., Moscardini A.C.R., Louvandini H., Paludo G.R., Borges J.R.J., Haraguchi M., Ferreira M.B., Riet-Correa F. 2011. *Brachiaria* spp. poisoning in sheep in Brazil: Experimental and epidemiological findings, p. 110-117. In: Riet-Correa F., Pfister J., Schild A.L., Wierenga T. (ed.) Poisoning by plants, mycotoxins and related toxins. CAB International, Willingford.
- Cheeke, P. R., & L. R. Shull. 1985. Natural toxicants in feeds and poisonous plants. AVI Publishing, Westport, CT. 422p.
- Coombs E., Mallory-Smith L.C., Burrill R.H., Callihan R., Parker & Radtke H. 1997. Tansy ragwort, *Senecio jacobaea* L. Pacific Northwest Extension Publication, 175:1-7.
- Duarte A.L.L., Medeiros R.M.T., Carvalho F.K.L., Lee S.T., Cook D., Pfister J.A., Costa V.M.M. & Riet-Correa F. 2013. Induction and transfer of resistance to poisoning by

- Amorimia (Mascagnia) septentrionalis* in goats. J Applied Toxicol. In press. DOI 10.1002/jat.2860
- Gava A., Neves D.S., Gava D.S.T.M. & Riet-Correa, F. 2002. Braken fern (*Pteridium aquilinum*) poisoning in cattle in southern Brazil. Vet. Human Toxicol. 44(6):362-365.
- Gorniak, S., Pfister, J., Lanzonia & E., Raspantini, E., 2008. A note on averting goats to a toxic but palatable plant, *Leucaena leucocephala*. Applied Animal Behaviour Science 111, 396-401.
- Grecco F.B., Estima-Silva P., Marcolongo-Pereira C., Soares M.P., Raffi M.B. & Schild A.L. 2012. Intoxicação experimental aguda por *Senecio brasiliensis* em ovinos e indução de resistência à intoxicação. Pesq. Vet. Bras. 32(9):912-916.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2012. Produção da pecuária municipal (PPM). Rio de Janeiro-RJ. v39,63p.
- Lôbo R.N.B. 2002. Melhoramento Genético de Caprinos e Ovinos: Desafios para o Mercado. Embrapa Caprinos, Sobral, CE, 36p.
- Maia L.A. 2013. Intoxicação por *Crotalaria retusa* em pequenos ruminantes. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB. 56 p.
- Milléo J., Corrêa J.H., Pena Castro J. & Pedrosa-Macedo J.H. 2010. Host specificity of *Phaedon confinis* (Coleoptera: Chrysomelidae) for the biocontrol of *Senecio brasiliensis* (Asteraceae). Rev. Bras. Entomol. 4 (2):61-66.
- Medeiros J.M., Tabosa I.M., Simões S.V.D., Nóbrega Júnior J.E., Vasconcelos J.S. & Riet-Correa F. 2005. Mortalidade perinatal em caprinos no semi-árido da Paraíba. Pesq. Vet. Bras. 25(4):201-206.
- Nóbrega Júnior J.E., Riet-Correa F., Nóbrega R.S., Medeiros J.M., Vasconcelos J.S., Simões S.V.D. & Tabosa I.M. 2005. Mortalidade perinatal de cordeiros no semi-árido da Paraíba. Pesq. Vet. Bras. 25(3):171-178.

- Oliveira C. A., Duarte M. D., Cerqueira V. D., Riet-correa, B., Riet-correa, F., Vinhote W. M., & Riet-Correa G. 2010. Utilização da técnica de aversão alimentar condicionada em caprinos intoxicados naturalmente por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*. VI Encontro Nacional de Diagnóstico Veterinário, Campo Grande - MS. In CD-ROM
- Oliveira C.A., Riet-Correa G & Riet-Correa F. 2013a. Utilização da técnica de aversão alimentar condicionada em caprinos para prevenção da intoxicação por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa*. Em preparação.
- Oliveira M.D., Riet-Correa F., Carvalho F.K., Silva G.B., Pereira W.S. & Medeiros R.M.T. 2013b. Indução de resistência à intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) mediante administração de doses sucessivas não tóxicas. Em preparação.
- Oliveira M.D., Riet-Correa F., Carvalho F.K., Silva G.B., Pereira W.S. & Medeiros R.M.T. 2013c. Indução de resistência à intoxicação por *Palicourea aeneofusca* (Rubiaceae) mediante administração de doses sucessivas não tóxicas. *Pesq. Vet. Bras.* No prelo.
- Pacífico da Silva I. & Soto-Blanco B. 2010. Conditioning taste aversion to *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) in sheep. *Res. Vet. Sci.* 88:239- 241.
- Pedroso P.M.O., Pescador C.A.P., Oliveira E.C., Sonne L., Bandarra P.M., Raymundo D.L. & Driemeier D. 2007. Intoxicações naturais por plantas em ruminantes diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS no período de 1996-2005. *Acta Sci. Vet.* 35:213-218.
- Pimentel L.A., Maia L.A., Campos E.M., Dantas A.F.M., Medeiros R.M.T., Pfister J.A., Cook D. & Riet-Correa F. 2012. Aversão alimentar condicionada no controle de surtos de intoxicações por *Ipomoea carnea* subsp. *fistulosa* e *Turbina cordata*. *Pesq. Vet. Bras.* 32(8):707-714.
- Riet-Correa F., Méndez M.C. & Schild A.L. 1993. Intoxicação por Plantas e Micotoxicoses em Animais Domésticos. Editorial Agropecuária Hemisferio Sur, Montevideo. 340p.

- Riet-Correa F. & Medeiros R.M.T. 2001. Intoxicações por plantas em ruminantes no Brasil e no Uruguai: importância econômica, controle e riscos para a saúde pública. *Pesq. Vet. Bras.* 21:38-42.
- Riet-Correa F. & Méndez M.C. 2007. Intoxicações por plantas e micotoxinas, p.99-221. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), *Doença de Ruminantes e Eqüídeos*. Pallotti, Santa Maria.
- Riet-Correa, F., Medeiros, R.M.T., Tokarnia, C.H. & Dobereiner, J. 2007. Toxic plants for livestock in Brazil: economic impact, toxic species, control measures and public health implications, 2-14. In: Panter K.E., Wierenga T.L., Pfister J.A. (ed.). (Org.). *Poisonous Plants: global research and solutions*. Wallingford: CAB International, Willingford.
- Riet-Correa F., Pfister J., Schild A.L., Medeiros R.M., Dantas A.F.M. 2009. Poisonings by plants, mycotoxins and related substances in Brazilian livestock. Pallotti, Santa Maria, 246p.
- Riet-Correa B., Riet-Correa F., Oliveira Junior C.A., Duarte V.C. & Riet-Correa G. 2010. Alterações histológicas em fígados e linfonodos de búfalos (*Bubalus bubalis*) em pastagens de *Brachiaria* spp. *Pesq. Vet. Bras.* 30(9):705-711.
- Riet-Correa F., Bezerra C.W.C. & Medeiros R.M.T. 2011a. *Plantas Tóxicas do Nordeste*. Sociedade Vicente Pallotti, Santa Maria, 82p.
- Riet-Correa B., Castro M.B., Lemos R.A., Riet-Correa G., Mustafa V. & Riet-Correa F. 2011b. *Brachiaria* spp. poisoning of ruminants in Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 31(3):183-192.
- Riet-Correa F., Carvalho K.S., Dantas A.F.M. & Medeiros R.M.T. 2011c. Spontaneous acute poisoning by *Crotalaria retusa* in sheep and biological control of this plant with sheep. *Toxicon* 58:606-609.

- Rissi D.R., Rech R.R., Pierezan F., Gabriel A.L., Trost M.E., Brun J.S., Komners G.D. & Barros C.S.L. 2007. Intoxicações por plantas e micotoxinas associadas a plantas em bovinos no Rio Grande do Sul: 461 casos. *Pesq. Vet. Bras.* 27:261-268.
- Schild A.L. 2008. Comunicação pessoal. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS. Email: alschild@terra.com.br
- Schuster J.L. 1978. Poisonous plants management problems and control measures on U.S. rangelands, p.23-34. In: Keeler R., Van Kampen K.R. & James L.F. (ed.), *Effets of Poisonous Plants on Livestock*. Academic Press, New York. 600p.
- Silva I.P., Lira R.A., Barbosa R.R., Batista J.S. & Soto-Blanco B. 2008. Intoxicação natural pelas folhas de *Mascagnia rigida* (Malpighiaceae) em ovinos. *Arq. Inst. Biol.* 75 (2): 229-233.
- Soares M.P., Riet-Correa F., Mendes M.C., Rosa F.G. & Carreira E.G. 2000. Controle biológico de *Senecio* spp. com pastoreio de ovinos. Segunda Reunión Argentina de Patología Veterinaria, Corrientes, p.79-80.
- Souza R.I.C., Riet-Correa F., Barbosa-Ferreira M., Brum K.B., Fernandes C.E. & Lemos R.A.A. 2010. Intoxicação por *Brachiaria* spp. em bovinos no Mato Grosso do Sul. *Pesq. Vet. Bras.* 30(12):1036-1042.
- Tokarnia C.H., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 1990. Poisonous plants affecting heart function of cattle in Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 10(1/2):1-10.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J., Dutra I.S., Brito I.S., Chagas B.R., França T.N. & Brust L.A.G. 1999. Experimentos em bovinos com favas de *Enterolobium contortisiliquum* e *E. timbouva* para verificar propriedades fotossensibilizantes e/ou abortivas. *Pesq. Vet. Bras.* 19(1):39-45.
- Tokarnia C.H., Döbereiner J. & Peixoto P.V. 2002. Poisonous plants affecting livestock in Brazil. *Toxicon* 40:1635-1660.

Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil. 2 ed. Editora Helianthus, Rio de Janeiro. 566p.

CAPÍTULO II

**Lesões pulmonares e hepáticas em asininos causadas pelos alcaloides
dehidropirrolizidínicos de *Crotalaria juncea* e *Crotalaria retusa***

Artigo submetido à Revista Toxicon

**Lesões pulmonares e hepáticas em asininos causadas pelos alcaloides
dehidropirrolizidínicos de *Crotalaria juncea* e *Crotalaria retusa***

C. R. M. Pessoa^a, A. F. A. Pessoa^a, L. A. Maia^a, R. M. T. Medeiros^a, S. M. Colegate^b, S.S.

Barros^c, M. P. Soares^c, A. S. Borges^d e F. Riet-Correa^{a*}

^a*Hospital Veterinário, Universidade Federal de Campina Grande, CEP. 58700-310, Patos, Paraíba, Brasil.*

^b*Poisonous Plant Research Laboratório de Pesquisa de Plantas Tóxicas, Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture, 1150 E. 1400 N., Logan, Utah 84341, USA.*

^c*Laboratório Regional de Diagnóstico, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.*

^d*Faculdade de Medicina Veterinária e Ciência Animal - Universidade Estadual Paulista, CEP. 18618-970, Botucatu, São Paulo, Brasil*

Abstract

The effects and susceptibility of donkeys to *Crotalaria juncea* and *Crotalaria retusa* poisoning were determined at high and low doses. Seeds of *C. juncea* containing 0.074% of dehidropirrolizidina alkaloids (DHPAs) (isohemijunceines 0.05%, trichodesmine 0.016%, and junceine 0.008%) were administered to three donkeys at 0.3, 0.6 and 1 g/kg body weight (g/kg) daily for 365 days. No clinical signs were observed and, on liver and lung biopsies, the only lesion was a mild liver megalocytosis in the donkeys ingesting 0.6 and 1 g/kg. Two other donkeys that ingested daily doses of 3 and 5 g seed/kg showed respiratory signs 70 and 40 days after the start of the administration, respectively. The donkeys were euthanized following severe respiratory signs and the main lung lesions were proliferation of Clara cells and interstitial fibrosis. Three donkeys ingested seeds of *C. retusa* containing 5.99% of monocrotalina at daily doses of 0.025, 0.05 and 0.1 g/kg for 365 days. No clinical signs were

observed and, on liver and lung biopsies, the only lesion was moderate liver megalocytosis in each of the three donkeys. One donkey that ingested a single dose of 5g/kg of *C. retusa* seeds and another that received 1g/kg daily for 7 days both showed severe clinical signs and died with diffuse centrilobular liver necrosis. No lung lesions were observed. Another donkey that ingested a single dose of 2.5 g/kg of *C. retusa* seeds showed no clinical signs. The hepatic and pneumotoxic effects observed are consistent with an etiology involving DHPAs. Furthermore, the occurrence of lung or liver lesions correlates with the type of DHPAs contained in the seeds. Similarly as has been reported for horses, the data herein suggest that in donkeys some DHPAs are metabolized in the liver causing liver disease, whereas others are metabolized in the lung by Clara cells causing lung disease.

Key words: Clara cells, *Crotalaria juncea*, *Crotalaria retusa*, donkey, pneumotoxicity, hepatotoxicity, dehydropyrrolizidine alkaloids.

Resumo

Os efeitos e a susceptibilidade de asininos à intoxicação por *Crotalaria juncea* e por *Crotalaria retusa* em doses altas e baixas foram determinados. Sementes de *C. juncea* contendo 0,074% de alcaloides dehidropirrolizidínicos (ADHPs) (isohemijunceínas 0,05%, tricodesmina 0,016% e junceína 0,008%) foram administradas a três asininos em doses de 0,3, 0,6 e 1 g/kg de peso corporal (g/kg) diariamente por 365 dias. Não foram observados sinais clínicos e nas biopsias de fígado e de pulmão, a única lesão encontrada foi megalocitose hepática discreta, nos asininos que ingeriram 0,6 e 1 g/kg. Dois outros asininos que ingeriram doses diárias de sementes de 3 e 5 g/kg apresentaram sinais respiratórios 70 e 40 dias após o início da administração, respectivamente. Esses animais foram eutanasiados após apresentarem sinais respiratórios graves. As principais lesões pulmonares foram a

proliferação de células Clara e fibrose intersticial. Não foram observados sinais clínicos nos três asininos que ingeriram sementes de *C. retusa* (contendo 5,99% de monocrotalina) em doses diárias de 0,025, 0,05 e 0,1 g/kg durante 365 dias. Nas biopsias de fígado e pulmão observou-se em todos os animais apenas megalocitose hepática moderada. Um asinino que ingeriu dose única de 5g/kg de sementes de *C. retusa* e outro que recebeu 1g/kg por dia durante 7 dias, mostraram sinais clínicos graves e morreram. Microscopicamente apresentaram necrose hepática centrolobular difusa. Não foram observadas lesões pulmonares. Um asinino que ingeriu uma dose única de 2,5 g/kg de sementes de *C. retusa* não apresentou sinais clínicos. Os efeitos hepáticos e pneumotóxicos observados são consistentes com etiologia envolvendo ADHPs. Além disso, a ocorrência de lesões no fígado ou no pulmão correlaciona-se com o tipo de ADHPs contido nas sementes. Da mesma forma como foi relatado para equinos, os dados sugere que alguns ADHPs são metabolizados no fígado causando lesões hepáticas, enquanto que outros são metabolizados no pulmão por células Clara causando doença pulmonar.

Palavras-chave: Células Clara, *Crotalaria juncea*, *Crotalaria retusa*, asininos, pneumotoxicidade, hepatotoxicidade, alcaloides dehidropirrolizidínicos.

Introdução

Em diferentes partes do mundo intoxicações em animais de pastoreio por alcaloides dehidropirrolizidínicos (ADHPs) estão restritas ao consumo de plantas de três famílias, Asteraceae (exemplos *Senecio*, *Eupatorium*, *Gynura*), Fabaceae (exemplo *Crotalaria*) e Boraginaceae (exemplos *Amsinckia*, *Cynoglossum*, *Echium*, *Heliotropium* and *Trichodesma*) (Hooper, 1978; Mattocks, 1986).

O gênero *Senecio* inclui cerca de 30 espécies tóxicas como *Senecio jacobaea* (Giles, 1983; Ggorder, 2000) e *Senecio vulgaris* (Lessard et al., 1986) previamente associadas a intoxicação em equinos. *Senecio brasiliensis* causou alguns surtos de intoxicação em cavalos no sul do Brasil (Gava e Barros, 1997). As espécies da família Boraginaceae que são potencialmente tóxicas para equinos incluem *Echium plantagineum* e *Heliotropium* spp., principalmente na Austrália (McKenzie, 2012) e *Cynoglossum officinale* nos Estados Unidos (Knight et al., 1984). Todas as espécies de Asteraceae e Boraginaceae causam lesões hepáticas com sinais nervosos, principalmente devido à encefalopatia hepática. Entre as espécies de *Crotalaria*, a *C. retusa* é a espécie hepatotóxica mais comum para equinos no Brasil (Nobre et al., 2004) e também causou intoxicação na Austrália (Rose et al., 1957a, b). Lesões pulmonares não têm sido relatadas em equinos intoxicados por esta planta. O principal ADHP da *C. retusa* é o diéster macrocíclico monocrotalina (MCT), que não tem sido relatada como pneumotóxica em animais de pastejo mas causa lesões pulmonares em ratos (Roth et al., 1981). Outras espécies de *Crotalaria*, incluindo *C. dura*, *C. globifera* e *C. monteiroi* na África (Kellerman et al., 2005, Botha et al., 2012), *C. crispata* na Austrália (Gardiner et al., 1965) e *C. juncea* no Brasil (Nobre et al., 1994) e África do Sul, (Kellerman et al., 2005) estão associadas a lesões pulmonares em equinos, com ou sem lesão hepática concomitante. Espécies de *Crotalaria* podem conter diferentes tipos de ADHPs, incluindo monocrotalina, fulvina, crispatina, tricodesmina, spectabilina, dicrotalina e cromedina (Gardiner et al., 1965; Zhang, 1985; Williams e Molyneux, 1987; Kellerman et al., 2005; Fletcher et al., 2009; 2011). Destes alcaloides apenas dicrotalina tem sido relatada como pneumotóxica para equinos (Kellerman et al., 2005). Este estudo teve como objetivo determinar a suscetibilidade de asininos à intoxicação por *C. retusa* e *C. juncea*, após a ingestão de sementes em altas e baixas doses, para

estabelecer se a ocorrência de lesões pulmonares ou hepáticas depende do tipo de ADHPs presente nas plantas ou da duração do tempo de exposição.

Material e Métodos

Sementes de *C. retusa* foram coletadas em áreas adjacentes ao município de Patos, Paraíba, Brasil. Uma amostra da planta foi depositada no Herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural - CSTR e autenticada (*voucher* # HCSTR 3724). Sementes de *C. juncea* utilizadas para o cultivo de adubo verde, foram compradas na empresa Sementes Pirai Ltda, Piracicaba, São Paulo. O conteúdo de ADHPs das sementes de ambas as plantas foram analisadas no Poisonous Plant Research Laboratory, Logan, Utah, USA, utilizando Cromatografia Líquida de Alta Performance e Espectrometria de Massa (HPLCesi (+) MS e MS/MS) nos extratos das sementes em metanol, como anteriormente descrito para outras plantas produtoras de ADHP (Colegate et al., 2012a,b), utilizando monocrotalina (MCT), tricodesmina e licopsamina como padrões de calibração, conforme apropriado para as ADHPs qualitativamente identificadas nos extratos das plantas.

Quatorze asininos de 1-2 anos de idade, foram alimentados com ração concentrada (50% de farelo de milho e 50% de farelo de trigo) na quantidade equivalente a 1% do seu peso corporal e com feno de *Cynodon dactylon* (Tifton) e água oferecidos *ad libitum*. Antes do início do experimento os animais foram adaptados durante 30 dias com esta dieta. Durante o experimento os animais foram avaliados clinicamente todos os dias.

Experimento 1. Baixo nível de exposição a sementes de *C. juncea* e *C. retusa*

Seis asininos (animais de 1-6) receberam sementes moídas de *C. retusa* ou *C. juncea* misturados com a ração concentrada em diferentes doses diárias (Tabela 1) durante 365 dias. Três animais controle (animais 12, 13 e 14) foram mantidos com a dieta de ração

concentrada/feno sem a adição de sementes de *Crotalaria* spp. Amostras de sangue foram coletadas semanalmente em tubos vacutainer. As atividades séricas de aspartato aminotransferase (AST), gama glutamil transferase (GGT) e a concentração de proteína total no soro sanguíneo (PT) foram medidas de acordo com Thrall et al. (2012). Biopsias hepáticas e pulmonares foram realizadas utilizando agulha de biopsia 14gx15cm guiada por ultra-som (Pearce et al., 1997, Venner et al., 2006) nos dias 210, 300 e 360 dias após o início da administração.

Experimento 2. Alto nível de exposição a sementes de *C. juncea* e *C. retusa*

Doses diárias repetidas (animais 7, 8, e 11) ou doses únicas (animais 9 e 10) de sementes moídas de *C. retusa* ou *C. juncea* foram administradas via sonda nasogástrica (Tabela 1). As atividades séricas de AST e GGT foram determinadas em amostras de sangue coletadas nos dias 0, 2, 4, 6, 8, 10, 20 e 30 dos asininos que ingeriram *C. retusa* e coletadas nos dias 0, 20, 40, 60 e 80 dias dos animais que ingeriram *C. juncea*. As biopsias hepáticas foram realizadas no animal 10, nos dias 90 e 210 após a administração.

Estudos patológicos

Os animais que morreram naturalmente ou foram eutanasiados *in extremis* foram necropsiados. As amostras de biopsia e amostras *post-mortem* dos tecidos das cavidades torácica e abdominal, bem como do sistema nervoso central, foram fixados em formalina tamponada a 10%, embebidos em parafina, cortados em 5 µm de espessura e corados com Hematoxilina-Eosina (HE) para exame histopatológico.

Seções de pulmão dos animais 7 e 8 foram corados também usando tricrômico de Masson para tecido fibroso, ácido periódico de Schiff para membranas basais, e reticulina de Gomori para fibras reticulares. Para a microscopia eletrônica, as amostras de tecidos de

pulmão da necropsia dos animais 7 e 8 foram fixados em glutaraldeído a 2% e pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 1%. Em seguida foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol e embebidas em Epon. Secções ultra-finas foram coradas com acetato de uranila e citrato de chumbo e examinadas em microscópio electrónico de transmissão Zeiss 109.

Resultados

A análise qualitativa HPLC-ESI (+) MS mostrou que as sementes de *C. retusa* continham o diéster monocrotalina (MCT) como o principal ADHP. As sementes de *C. juncea*, no entanto, continham os diésteres macrocíclicos tricodesmina e junceína e o C9 monoéster isohemijunceína (Fig. 1 e 2) ambas as espécies com poucas provas da presença de N-óxidos nos extratos das sementes. Os alcaloides totais das sementes de *C. juncea* usadas no experimento de baixa exposição foi de 0,074% (isohemijunceínas 0,05%, tricodesmina 0,016% e junceína 0,008%) e para as sementes utilizadas no experimento da alta exposição foi 0,078% (isohemijunceínas 0,055%, tricodesmina 0,022% e junceína 0,001%). A análise das sementes de *C. retusa* revelou um teor de 5,99% de MCT, o que correspondeu a mais de 99% do teor de ADHP das sementes. Também foram observados traços de monocrotalina-N-óxido e dois diésteres macrocíclicos relacionados.

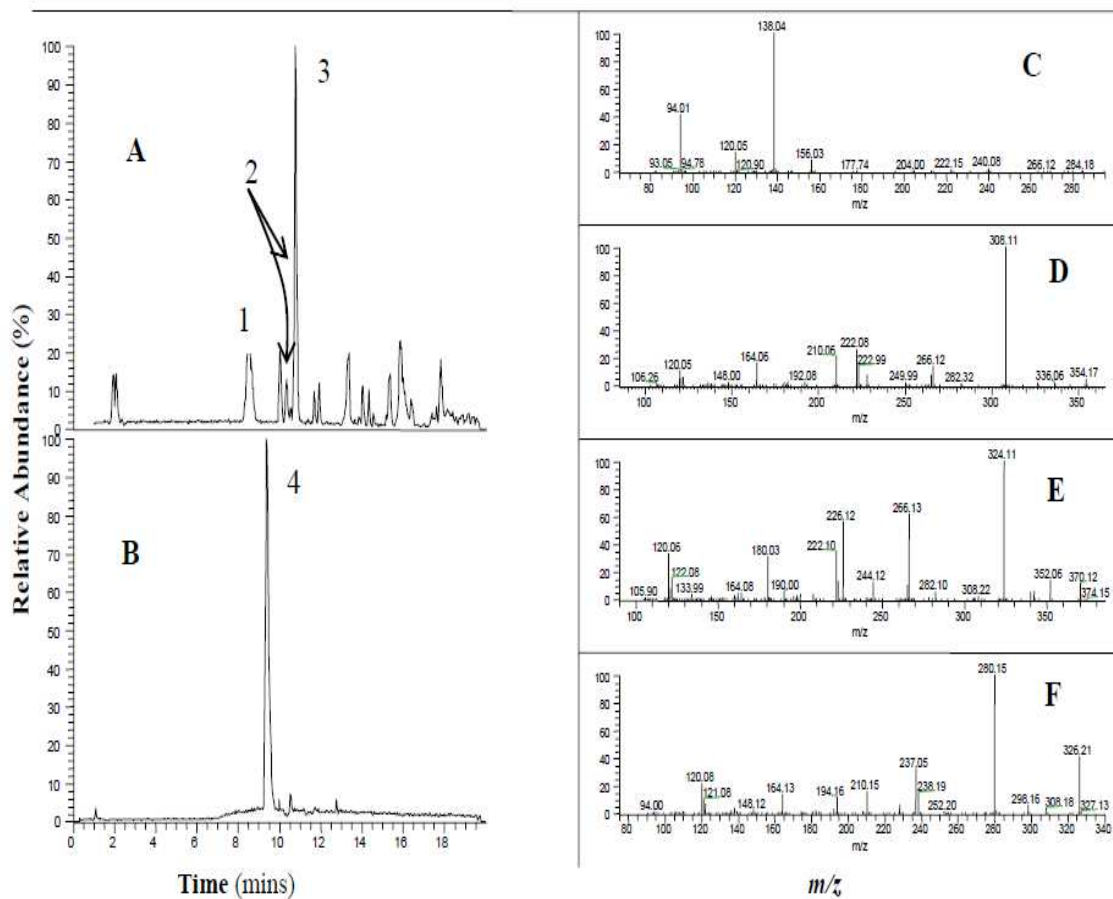


Fig. 1. Cromatogramas HPLC-ESI (+) MS base de íons (m/z 200 - 1000) dos extratos metanólicos de sementes moídas de: A. *Crotalaria juncea* e B. *Crotalaria retusa*. C - F espectros de MS/MS para isohemijunceínas (pico 2), tricodesmina (pico 3), junceína (pico 1) e monocrotalina (pico 4), respectivamente. A principal isohemijunceína e a tricodesmina co-eluem sob estas condições cromatográficas.

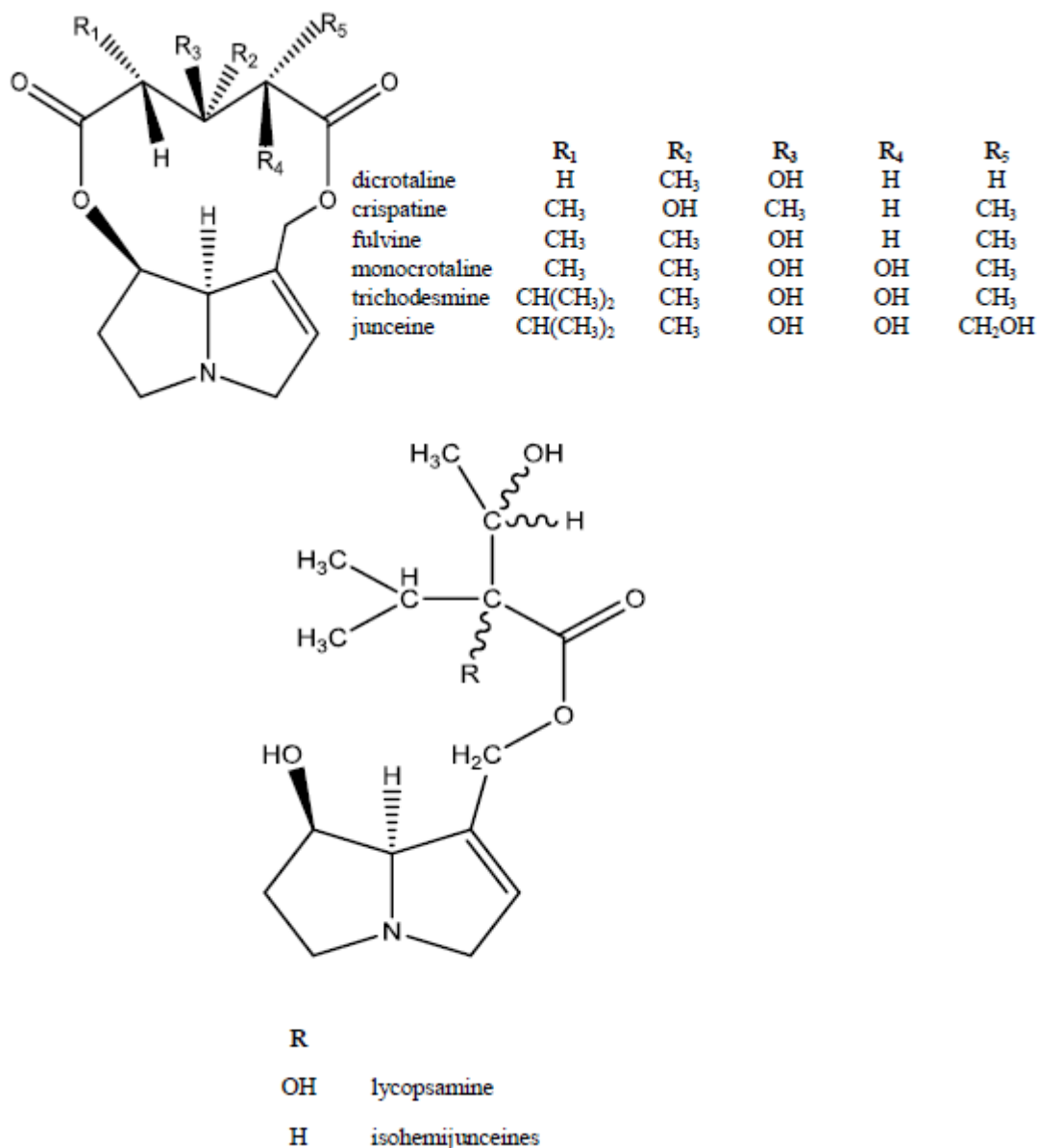


Fig. 2. Estruturas de alcaloides dehidropirrolizidínicos referidos no texto.

Experimento 1. Baixo nível de exposição a sementes de *C. juncea* e *C. retusa*

Não foram observados sinais clínicos ou lesões pulmonares nos asininos deste experimento. Não houve mudanças na atividade sérica de GGT ou AST ou em concentrações séricas de PT. Os valores de referência foram obtidos a partir do grupo controle: PT 6,4-7,8 g/dL; AST 363-420 UI/L; GGT 23-59 UI/L. A lesão histológica observada nas biopsias hepáticas foi megalocitose discreta (Fig. 3) com vacuolização intranuclear ocasional dos hepatócitos. Esta lesão foi observada na biopsia do dia 300 em todos os animais que ingeriram *C. retusa* e no dia 360 em dois animais (1 e 2) que ingeriram *C. juncea*.

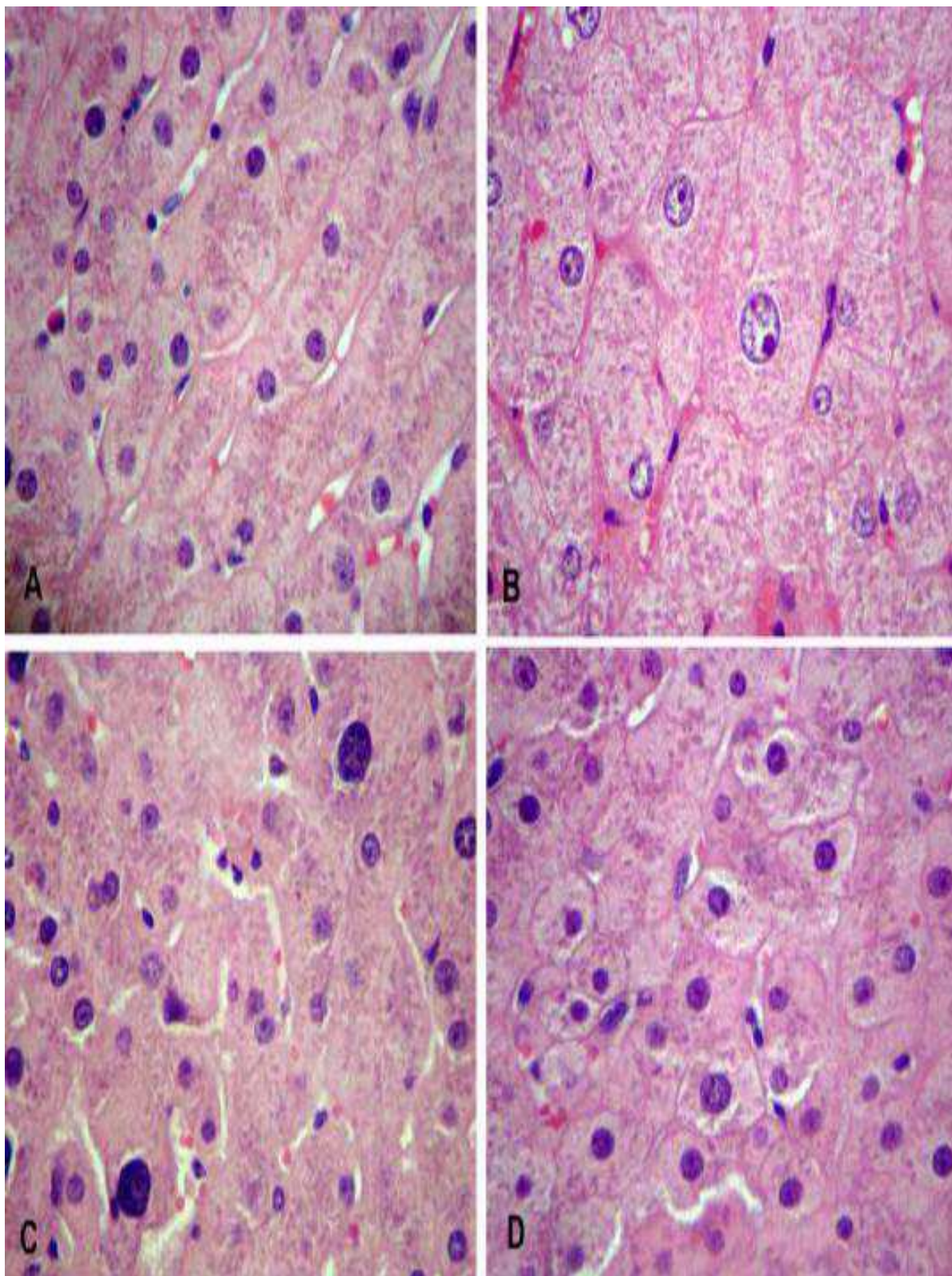


Fig. 3. Histologia do fígado. A) Animal controle. B) Animal 2, após 365 dias de ingestão de 0,6 g/kg sementes de *Crotalaria retusa*. C) Animal 5, depois de 365 dias de ingestão de 0,05 g/kg de sementes de *C. retusa*. D) Animal 6, após 365 dias de ingestão de 0,025 g/kg sementes de *C. retusa*, H-E, x20.

Experimento 2. Alto nível de exposição a sementes de *C. juncea* e *C. retusa*

Intoxicação por *C. juncea*. Os primeiros sinais clínicos nos animais 7 e 8 observados 40 e 70 dias após o início da ingestão da semente, respectivamente, foram relutância para se mover e, na ausculta do tórax, aumento da audibilidade dos sons respiratórios e sons cardíacos nos campos pulmonares. Em 2 a 3 dias, estes sinais evoluíram para anorexia e dispnéia intensa com narinas dilatadas. Não houve mudanças nas atividades séricas de AST e GGT.

Os asininos 7 e 8 foram eutanasiados 50 e 90 dias após o início da administração das sementes, respectivamente. Na necropsia, os pulmões apresentavam-se não colapsados e pálidos. Nódulos esbranquiçados coalescentes medindo 0,5-1,5 cm foram observados sobre a superfície e parênquima pulmonar (Fig. 4A e B). No exame microscópico foram observadas acentuada proliferação de células Clara nos bronquíolos terminais (Fig. 4C) e áreas de enfisema e de atelectasia. Ocasionalmente, nódulos multifocais a coalescentes formados por células Clara (Fig. 4D) estavam presentes no parênquima, mas as seções seriadas destas lesões mostraram que os nódulos estavam associados com os bronquíolos terminais ou ductos alveolares. Proliferação de tecido conjuntivo frouxo ou mais maduro foi observada associada com as áreas de proliferação de células Clara (Fig. 4D). Edema alveolar e infiltração discreta de neutrófilos nos alvéolos foram observados (Fig. 4C e D). Não foram observadas lesões histológicas no fígado.

Na microscopia eletrônica das lesões pulmonares, os nódulos observados correspondem à proliferação intersticial de diferentes tipos celulares, células Clara e células musculares lisas, rodeadas por tecido conjuntivo (Fig. 5A). Houve uma diminuição ou ausência no número de grânulos típicos de células Clara (Fig. 5A, B). Em alguns nódulos a proliferação de células Clara ocorre em torno de um espaço vazio correspondente a ducto alveolar ou bronquíolo terminal, mas não foram observadas células ciliadas (Fig. 5B). Uma maior ampliação das células do músculo liso na periferia do nódulo é visto na fig. 5C.

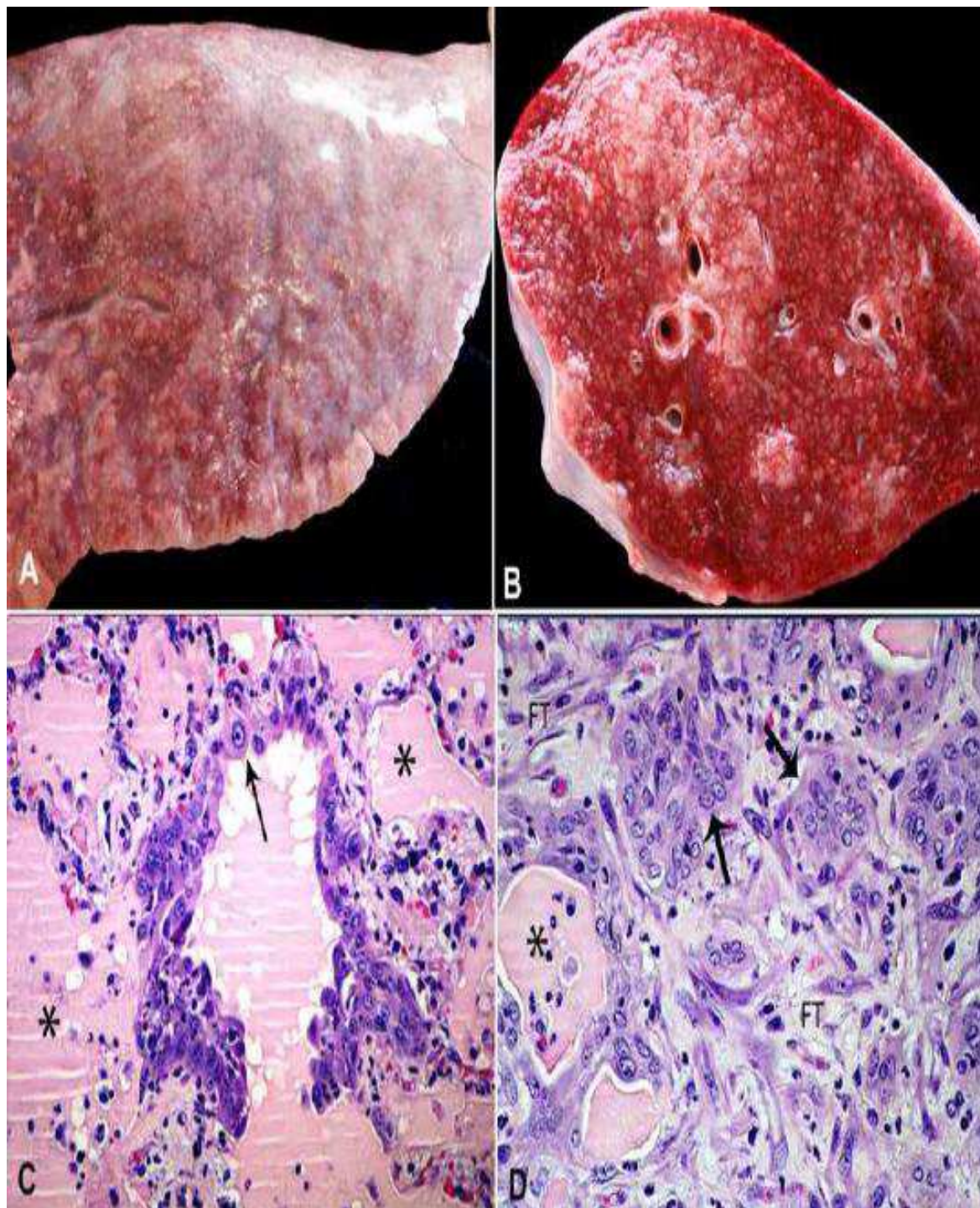


Fig. 4. Pulmão. Animal 8. A) Superfície do pulmão apresentando nódulos pálidos e áreas de enfisema e atelectasia. B) Parênquima pulmonar mostrando nódulos esbranquiçados, coalescentes. C) Bronquíolos terminais mostrando a proliferação de células Clara (seta). Edema (*) e células inflamatórias são observados dentro de alvéolos. H & E, x10. D) Nódulos de células Clara (setas), tecido fibroso (FT) e edema (*) dentro de alvéolos, H-E, x20.

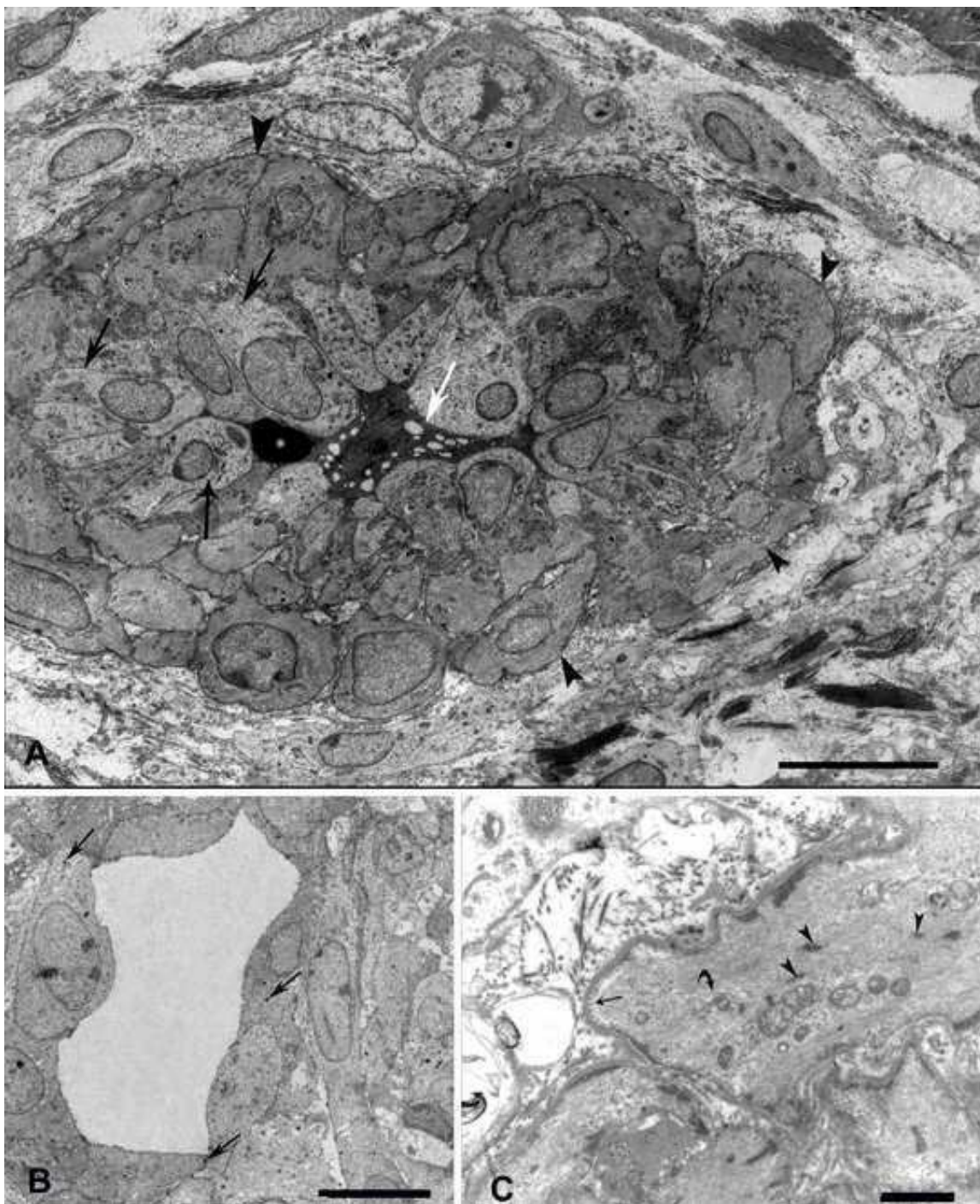


Fig. 5. Pulmão. Microscopia eletrônica. A) Proliferação intersticial de células Clara. Há uma diminuição notável do número de grânulos típicos de células Clara (setas) e ausência de grânulos são observadas em algumas células. Na porção central do nódulo células necróticas (seta branca) e um eritrócito (asterisco) são vistos. O nódulo é rodeado por tecido conjuntivo. Bar = 10 μ m. B) Um espaço vazio é cercado por proliferação de células Clara. Alguns grânulos são vistos em algumas células (setas). Note-se a ausência de células ciliadas. Bar = 10 μ m. C) Proliferação de células musculares lisas na fronteira do nódulo. Célula em corte oblíquo apresenta uma lâmina basal proeminente (seta curta), numerosas vesículas picnóticas (seta), feixes de material fibrilar (asterisco), corpos densos (cabeças de seta) e microtúbulos (seta curva). Bar = 1 μ m.

Intoxicação por *C. retusa*. O asinino 9 que recebeu dose única de 5 g/kg de sementes, apresentou sinais clínicos 4 dias após a ingestão. O animal 11, que recebeu 7 doses diárias de 1 g/kg de sementes, mostrou sinais clínicos, no final da administração. Apatia e anorexia, seguida por epistaxe, icterícia, taquipnéia, taquicardia e pulso jugular positivo dentro de um período de 24-48 horas foram observados em ambos os animais. O quadro evoluiu para decúbito e os animais morreram 9 e 10 dias após o início do consumo da planta, respectivamente. As atividades séricas de AST e GGT do animal 9 estiveram elevadas (550 UI/L e 53 UI/L respectivamente), imediatamente antes da sua morte. A atividade sérica da AST permaneceu dentro dos parâmetros normais no animal 11 enquanto que a atividade de GGT aumentou no último dia de vida (168 UI/L).

Na necropsia, hemorragias petequiais e sufusões foram observadas na superfície serosa do trato gastrointestinal, na mucosa da bexiga, nos pulmões, fígado, diafragma, mesentério, endocárdio, epicárdio e válvulas cardíacas. Conteúdo sanguinolento no intestino delgado e cólon, e edema do mesentério, mucosa do ceco e cólon, no interior da traquéia e pulmões também foram observados. O fígado mostrava aumento no padrão lobular na superfície de corte. No estômago foram verificadas múltiplas erosões na mucosa. Histologicamente, a lesão principal foi necrose centrolobular por vezes massiva no fígado. Edema acentuado e hemorragia nos órgãos mencionados anteriormente também foram observados.

O asinino 10, que recebeu uma dose única de 2,5 g/Kg de sementes, não apresentou anormalidades clínicas. A atividade sérica da GGT foi elevada no dia 10 (137 UI/L), mas no dia 20 já havia voltado ao normal. A atividade sérica da AST permaneceu dentro dos valores normais. Não foram observadas lesões nas biopsias hepáticas realizadas.

Tabela 1. Intoxicação experimental por sementes de *Crotalaria juncea* e *Crotalaria retusa* em asininos

Animal	Planta (sementes)	Média de dose diária de sementes g/kg/pc	Dose diária de alcaloides calculadas mg/kg/pc	Número de dias de ingestão da planta	Desfecho
Baixa dose					
1	<i>C. juncea</i>	1	0,74	365	Sem sinais clínicos. Sem lesão pulmonar. Megalocitose no fígado.
2	<i>C. juncea</i>	0,6	0,433	365	Sem sinais clínicos. Sem lesão pulmonar. Megalocitose no fígado.
3	<i>C. juncea</i>	0,3	0,222	365	Sem sinais clínicos. Sem lesão pulmonar. Sem lesão no fígado.
4	<i>C. retusa</i>	0,1	5,99	365	Sem sinais clínicos. Sem lesão pulmonar. Megalocitose no fígado.
5	<i>C. retusa</i>	0,05	2,99	365	Sem sinais clínicos. Sem lesão pulmonar. Megalocitose no fígado.
6	<i>C. retusa</i>	0,025	1,49	365	Sem sinais clínicos. Sem lesão pulmonar. Megalocitose no fígado.
Alta dose					
7	<i>C. juncea</i>	5	3,9	48	Eutanasiado no dia 50. Severa lesão pulmonar. Sem lesão no fígado.
8	<i>C. juncea</i>	3	2,34	83	Eutanasiado no dia 90. Severa lesão pulmonar. Sem lesão no fígado.
9	<i>C. retusa</i>	5	299,5	1	Morreu no dia 9. Lesão no fígado. Sem lesão pulmonar.
10	<i>C. retusa</i>	2,5	149,7	1	Sem sinais clínicos. Sem lesão no fígado.
11	<i>C. retusa</i>	1	59,9	7	Morreu no dia 10. Lesão no fígado. Sem lesão pulmonar.

Discussão

Os resultados demonstraram que os asininos, assim como equinos, são susceptíveis aos efeitos de alguns ADHPs pneumotóxicos. As principais lesões histológicas observadas são similares as relatadas nos equinos, caracterizadas pela proliferação de células Clara nos bronquíolos terminais (Botha et al., 2012.) e fibrose intersticial (Nobre et al., 1994; Kellerman et al., 2005; Gardiner et al., 1965). A perda de grânulos típicos das células Clara é descrita na intoxicação por *Crotalaria* spp. (Botha et al., 2012) e na doença pulmonar obstrutiva em equinos (Kaup et al., 1999). A proliferação das células Clara para formar nódulos no interstício e a proliferação de células musculares lisas na periferia dos nódulos não foram descritas anteriormente na intoxicação por *Crotalaria* spp. em cavalos, e provavelmente representa uma resposta destas células a prolongados e elevados níveis de exposição aos alcaloides, como ocorreu nos asininos 7 e 8.

Este estudo também demonstrou que os alcaloides encontrados na *C. juncea* estão associados com doenças respiratórias de equídeos, enquanto que *C. retusa*, que produz o ADHP monocrotalina, faz exclusivamente lesões no fígado. Anteriormente, a doença respiratória em cavalos havia sido associada a *C. dura* e *C. globifera*, ambas contendo dicrotalina (Kellerman et al., 2005), e *C. crispata* que produz monocrotalina, fulvina e crispatina em quantidades aproximadamente iguais (Culvenor e Smith, 1962).

Em experimentos com coelhos MCT, crispatina e fulvina juntas e apenas fulvina causaram lesões pulmonares (Gardiner et al., 1965). Curiosamente, apesar das diferenças no efeito sobre o pulmão, dicrotalina, fulvina, crispatina e MCT são todos ADHPs diésteres macrocíclicos retronecina-base e apenas diferem no grau de hidroxilação e metilação do macrociclo (Bull et al., 1968). No caso da fulvina e crispatina, a única diferença reside na estrutura química de um centro quiral no anel

macrocíclico (Culvenor e Smith, 1962). Além disso, apesar da junceína e tricodesmina, produzidas pela *C. juncea* serem também retronecina-base, não existe semelhança estrutural com a dicrotalina para sugerir-las como uma possível causa da lesão pulmonar. Alternativamente, a predominância das isohemijunceínas, monoésteres retronecina-base, pode sugerir um papel na patogênese da lesão pulmonar.

Essas incertezas, portanto, indicam a necessidade de examinar individualmente cada um dos ADHPs da *C. juncea* para pneumotoxicidade. Duas explicações possíveis para a ocorrência de efeitos de ADHPs pneumotóxicos são de que os metabolitos tóxicos, pirróis, produzidos no fígado e liberados para a circulação sistêmica são capazes de causar danos ao pulmão, ou que o ADHP intacto, metabólito não-pirrólico, é oxidado pelo sistema do citocromo P450 de células Clara. De acordo com as sugestões e observações de Botha et al. (2012) em cavalos, sugere-se também que a ausência de lesões hepáticas extensas após a ingestão de sementes de *C. juncea* dá suporte à hipótese de que os componentes pneumotóxicos, presumivelmente os ADHPs, passam relativamente inalterados através do fígado e são ativados pelas células Clara, assim, fazendo com que ocorra doença pulmonar *in situ*.

A ocorrência de megalocitose discreta nos asininos 1 e 2, que ingeriram doses baixas de sementes de *C. juncea* diariamente durante um ano, sugere que a exposição a longo prazo, a pelo menos um dos ADHPs da *C. juncea* afeta o fígado. Em contraste, os asininos 7 e 8 que ingeriram doses elevadas de *C. juncea* durante 48 e 83 dias, respectivamente, não apresentaram lesões hepáticas. Portanto, outra possibilidade é que a exposição prolongada a um nível inferior só resulta em hepatotoxicidade leve e que as lesões pulmonares não ocorrem até que a dose torne-se alta o suficiente de modo que o ADHP escape do fígado para ser metabolizado e em seguida provocar danos ao pulmão, antecipando assim a formação e observação das lesões no tecido hepático.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para o Controle das Intoxicações por Plantas, processo 573534/2008-0 CNPq/INCT.

Referências

- Botha, C.J.A., Lewis, E.C., du Plessis S.J., Williams, C.M.C., 2012. Crotalariosis equorum (“jaagsiekte”) in horses in southern Mozambique, a rare form of pyrrolizidine alkaloid poisoning. *J. Vet. Diagn. Invest.* 24(6), 1099-1104.
- Bull LB, Culvenor CCJ, Dick AT. 1968. In *The Pyrrolizidine Alkaloids: Their Chemistry, Pathogenicity and other Biological Properties*; North-Holland: Amsterdam.
- Colegate, S.M., Gardner, D.R., Davis, T.Z., Panter, K.E., Betz, J.M., 2012a. Dehydropyrrolizidine alkaloids in two *Cryptantha* species: including two new open chain diesters one of which is amphoteric. *Phytochem. Anal.* (wileyonlinelibrary.com) DOI 10.1002/pca.2400.
- Colegate, S.M., Gardner, D.R., Joy, R.J., Betz, J.M., Panter, K.E., 2012b. Dehydropyrrolizidine alkaloids, including monoesters with an unusual esterifying acid, from cultivated *Crotalaria juncea* (Sunn Hemp cv., Tropic Sun”). *J. Agric. Food Chem.* 60, 3541–3550.
- Culvenor, C. C. J. and Smith, L. W., 1962. Alkaloids of *Crotalaria crispata* F. Muell. ex Benth., The structures of crispatine and fulvine. *Aust. J. Chem.* 16, 239-245.

- Fletcher, M. T., McKenzie, R. A., Blaney, B. J., Reichmann, K. G., 2009. Pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* taxa from northern Australia: risk to grazing livestock. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 311–319.
- Fletcher, M. T., Hayes, P. Y., Somerville, M. J., De Voss, J. J., 2011. *Crotalaria medicaginea* associated with horse deaths in Northern Australia: new pyrrolizidine alkaloids. *J. Agric. Food Chem.*, 59, 11888–11892.
- Gardiner, M. R., Royce, R., Bokor, A., 1965. Studies on *Crotalaria crispata*, a newly recognized cause of Kimberly horse disease. *J. Comp. Path. Bact.* 89, 43-53.
- Gava A., Barros C.S.L., 1997. *Senecio* spp. poisoning of horses in southern Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 17(1), 36-40.
- Ggorder, de Lanux-Van V., 2000. Tansy ragwort poisoning in a horse in southern Ontario. *Can. Vet. J.* 41(5), 409-410.
- Giles, C.J., 1983. Outbreak of ragwort (*Senecio jacobaea*) poisoning in horses. *Equine Vet. J.* 15(3), 248-250.
- Hooper, P.T., 1978. Pyrrolizidine alkaloid poisoning - Pathology with particular reference to differences in animal and plant species. In: Keeler, R.F., Van Kampen K.R., James, L.F. (Eds), *Effects of Poisonous Plants on Livestock*. Academic Press. New York, pp. 161-176.
- Kaup, F.J., Drommer, W., Damsh, S., Deegen, E., 1999. Ultrastructural findings in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Equine Vet. J.* 22, 349-355.
- Kellerman, T.S., Coetzer, I.A.W., Naudé, T.W., Botha, C.J. 2005. *Plant Poisonings and Mycotoxicoses of Livestock in Southern Africa*, second ed. Oxford University Press. Republic of South Africa.

- Knight, A.P., Kimberling, C.V., Stermitz F.R., Roby, M.R., 1984. *Cynoglossum officinale* (hound's-tongue) a cause of pyrrolizidine alkaloid poisoning in horses. J. Am. Vet. Med. Assoc. 185, 647-650.
- Lessard P., Wilson, W.D., Olander H.J., Rogers Q.R., Mendel V.E., 1986. Clinicopathologic study of horses surviving pyrrolizidine alkaloid (*Senecio vulgaris*) toxicosis. Am. J. Vet. Res. 47, 1776-1780.
- Mattocks, A.R., 1986. Chemistry and Toxicology of Pyrrolizidine Alkaloids. Academic Press. Orlando.
- McKenzie, R., 2012. *Australia's Poisonous Plants, Fungi and Cyanobacteria. A Guide to Species of Medical and Veterinary Importance.* CSIRO Publishing. Collingwood.
- Nobre, D., Dagli, M.L.Z., Haraguchi, M., 1994. *Crotalaria juncea* intoxication in horses. Vet. Human. Toxicol. 36, 445-448.
- Nobre, V.M.T., Riet-Correa F., Barbosa Filho, J.M., Dantas, A.F., Tabosa, I.M., Vasconcelos, J.S., 2004. Intoxicação por *Crotalaria retusa* (Fabaceae) em Equídeos no semi-árido da Paraíba. Pesq. Vet. Bras. 24(3),132-143.
- Pearce, S.G., Firth, E.C., Grace, N.D., Fennessy, P.F., 1997. Liver biopsy techniques for adult horses and neonatal foals to assess copper status. Aust. Vet. J.75, 194-198.
- Rose, A.L., Gardner, C.A., McConnell, J.D., Bull, L.B., 1957a. Field and experimental investigation of Walkabout disease of horses (Kimberly horse disease) in Northern Australia: *Crotalaria* poisoning in horses. Part I. Aust. Vet. J. 33, 24-33.
- Rose, A.L., Gardner, C.A., McConnell, J.D., Bull, L.B., 1957b. Field and experimental investigation of Walkabout disease of horses (Kimberly horse disease) in Northern Australia: *Crotalaria* poisoning in horses. Part II. Aust. Vet. J. 34, 49-62.

- Roth R.A., Dotzlar L.A., Barany, B. Kuo, C.H., Hook, J.B., 1981. Effect of monocrotaline ingestion on liver and lungs in rats. *Toxicol. App. Pharmacol.* 60, 193-203.
- Thrall, M. A., Weiser, G., Alisson, R., Campbel, T.W., 2012. *Veterinary and Clinical Chemistry*. Second ed. Wiley-Blacwell. Oxford.
- Venner, M., Schmidbauer, S., Drommer W., Deegen, E., 2006. Percutaneous lung biopsy in the horse: comparison of two instruments and repeated biopsy in horses with induced acute interstitial pneumopathy. *J. Vet. Intern. Med.* 20, 968-973.
- Williams, M.C., Molyneux, R.J., 1987. Occurrence, concentration, and toxicity of pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* seeds. *Weed Sci.* 35(4),476-481.
- Zhang, X.L., 1985. Toxic components of the seeds of *Crotalaria juncea* and their toxicity for pigs. *Chinese J. Vet. Sci. Tech.* 7, 13-17.

CAPÍTULO III

Intoxicação por *Marsdenia hilariana* e *M. Megalantha* em ruminantes

Artigo publicado na Revista Toxicon

Intoxicação por *Marsdenia hilariana* e *M. Megalantha* em ruminantes

Clarice R.M. Pessoa^a, Franklin Riet-Correa^a, Rosane M.T. Medeiros^a, Sara V.D.

Simões^a, Alessandro Rapini^b

^a Hospital Veterinário, CSTR, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, 58700-000, Patos-PB, Brasil.

^b Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Av. Universitária s/n, Novo Horizonte, 44036-900, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

Abstract

Neurological signs were observed in cattle consuming the roots of *Marsdenia hilariana* and sheep consuming leaves of *M. megalantha*. Similar nervous signs to those observed in spontaneous poisoning were induced experimentally by the administration of roots of *M. hilariana* to goats, and by the administration of leaves and roots of *M. megalantha* to sheep.

Keywords: Asclepiadoideae; northeastern Brazil; plant poisonings; poisonous plants; semiarid region.

Resumo

Sinais neurológicos foram observados em bovinos consumindo as raízes de *Marsdenia hilariana* e em ovinos consumindo folhas de *M. megalantha*. Sinais nervosos semelhantes aos observados na intoxicação espontânea foram induzidos experimentalmente através da administração de raízes de *M. hilariana* para caprinos, e de folhas e raízes de *M. megalantha* para ovinos.

Palavras-chave: Asclepiadoideae; Nordeste do Brasil; intoxicações por plantas; plantas tóxicas; região semiárida.

Introdução

Fazendeiros da região semiárida do Nordeste do Brasil afirmam que plantas conhecidas popularmente como "mata-calado", do gênero *Marsdenia* R. Br. (Asclepiadoideae, Apocynaceae), são responsáveis pela morte de ruminantes. Além disso, as raízes e os frutos dessas plantas são utilizadas pelos fazendeiros como veneno para matar animais como cães, gatos e ratos. Em uma pesquisa sobre plantas tóxicas realizada com fazendeiros e veterinários na área semiárida do Estado do Rio Grande do Norte, seis agricultores relataram mortalidade de bovinos e ovinos associados com a ingestão de raízes ou folhas de *Marsdenia* sp. e um fazendeiro relatou sinais nervosos em 10 suínos alimentados com raízes de *Marsdenia* sp. Os sinais foram observados aproximadamente 1 hora após a ingestão; 5 suínos morreram e os outros recuperaram-se (Silva et al., 2006). O objetivo deste trabalho é relatar a intoxicação natural em bovinos e ovinos por *M. hilariana* E. Fourn. (Fig. 1) e *M. megalantha* Goyder & Morillo (Fig. 2), respectivamente. *Marsdenia hilariana* é uma trepadeira que ocorre na região neotropical e *M. megalantha* é um arbusto rupícolas de até 60 cm de altura e endêmico da caatinga. A reprodução experimental da intoxicação em caprinos com *M. hilariana* e em ovinos com *M. megalantha* também é relatada.

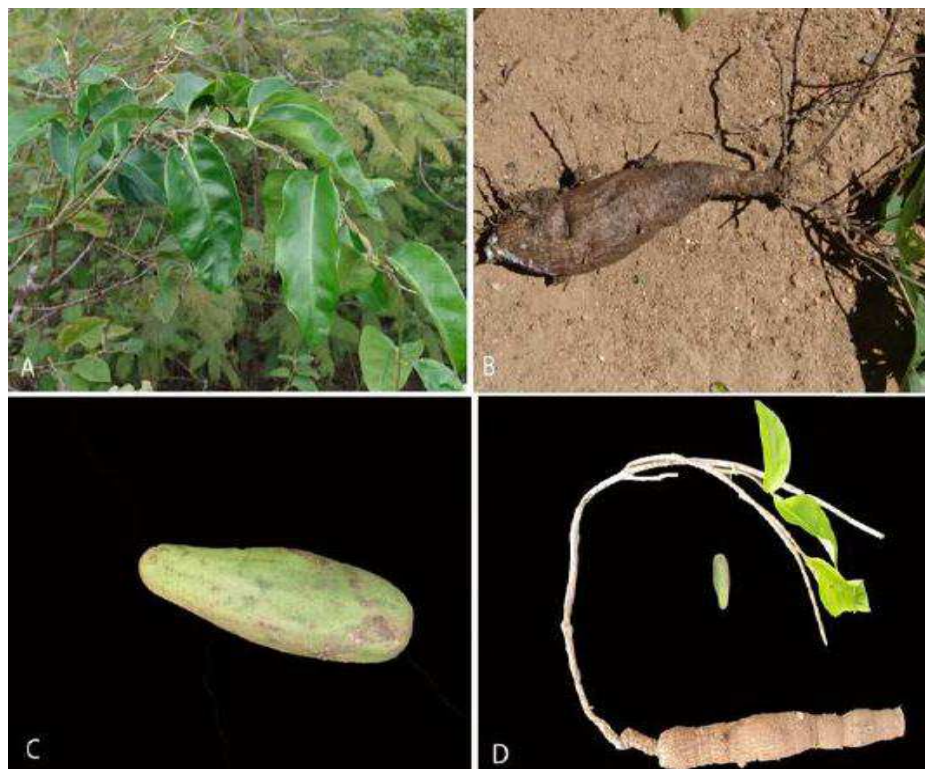


Fig. 1. *Marsdenia hilariana*. Município de Soledade, Estado da Paraíba, Nordeste, Brasil. A) Partes aéreas; B) Raízes; C) Cápsula; D) Planta completa.



Fig. 2. *Marsdenia megalantha*. Município de Jardim do Seridó, Estado do Rio Grande do Norte, Nordeste, Brasil. A) Partes aéreas; B) Flores; C) Cápsula; D) Raízes.

Intoxicação por *Marsdenia hilariana*

Um surto de intoxicação causada pela ingestão de *M. hilariana* foi observada no município de Soledade, Estado da Paraíba, em dezembro de 2003, em um piquete onde as árvores foram arrancadas e raízes de *M. hilariana* foram expostas junto com as raízes das árvores. Duas vacas, um bezerro e um touro pastando no piquete ingeriram a raiz de *M. hilariana*. Na manhã do dia seguinte, uma vaca, o bezerro e o touro apresentavam-se decúbito lateral, com salivação e movimentos de mastigação. No final do dia, a outra vaca apresentou incoordenação, evoluindo para decúbito esternal.

A primeira vaca, que apresentou sinais clínicos morreu em cerca de 24 horas. Após 48 horas, o touro e o bezerro apresentavam decúbito lateral permanente, e ainda dispnéia e paralisia. Quando colocados em decúbito esternal voltavam para decúbito lateral. Quando estimulados mostravam fasciculação de diversos músculos, principalmente os da cabeça e das orelhas, hiperestesia e tetania. O touro também mostrou opistótono. Seis dias após o início dos sinais, o touro morreu e o bezerro foi sacrificado e necropsiado.

Para avaliação histológica, o sistema nervoso central e outros tecidos foram fixados em formalina tamponada a 10%, embebidos em parafina, seccionados a 5 μ m, e corados com hematoxilina e eosina. Lesões macroscópicas ou microscópicas não foram observados. A segunda vaca, que apresentou sinais clínicos recuperou-se em 8 dias. Para a reprodução experimental da intoxicação, doses únicas de raízes de *M. hilariana* coletadas no piquete onde ocorreu a doença foram administrados por via oral a dois caprinos de 4 meses de idade, em doses de 10 e 40 g por kg (g / kg) de peso corporal (PC) (Tabela 1). As raízes foram fatiadas em pedaços de 0,5-1 cm e administrado por colocar pequenas quantidades em suas bocas.

Um caprino foi utilizado como controle. Antes do experimento, todos os animais foram mantidos em baias individuais, alimentados com quantidade diária de ração comercial equivalente a 1% de peso corporal e água e capim Tifton *ad libitum*. Os animais experimentais mostraram inicialmente tremores leves dos membros posteriores e da mandíbula, sonolência e paralisia da língua, evoluindo para perda de equilíbrio, tremores generalizados e paralisia flácida com decúbito esternal e posteriormente lateral. Nistagmo, movimentos de pedalagem, midríase, crise tetânica periódica com opistótono, bruxismo, salivação acentuada e gemidos também foram observados. O animal controle não apresentou sinais clínicos. Devido aos sinais clínicos graves, os animais foram sacrificados. Detalhes sobre o experimento são apresentados na Tabela 1. Não foram observadas lesões em necropsias e no exame histológico do sistema nervoso e outros tecidos.

Tabela 1. Intoxicação experimental com raízes de *Marsdenia hilariana* em caprinos.

Nº Caprino	Dose	Início dos sinais clínicos após administração	Eutanásia (horas depois do aparecimento dos sinais)
1	10 g/kg ^a	8 horas	3
2	40 g/kg	30 minutos	2
3	Controle	NAS ^b	----

^a g por Kg de peso vivo; ^b NAS não apresentou sinais clínicos.

Intoxicação por *Marsdenia megalantha*

A intoxicação ocorreu em janeiro de 1995, em uma fazenda no município de Jardim do Seridó, Estado do Rio Grande do Norte, afetando 270 ovinos, de um rebanho de 700, que foi introduzido em um piquete invadido por *M. megalantha*. A maioria dos ovinos foram encontrados mortos depois de alimentados com as folhas verdes da planta. Outros apresentavam incoordenação motora, tremores, salivação, decúbito e morte em poucas horas. Poucos animais, com leves sinais nervosos recuperaram-se. Necropsias não foram realizadas. De acordo com os agricultores da região, a morte em ovinos associada à ingestão desta planta vinha sendo observada desde 1988. Para a reprodução experimental da intoxicação das folhas e raízes de *M. megalantha* foram coletados na fazenda onde ocorreu a doença e administradas a cinco ovinos de 5-6 meses de idade (Tabela 2). Dois ovinos foram utilizados como controle. Todos os animais foram mantidos em baias individuais e alimentados com quantidade diária de ração comercial equivalente a 1% de peso corporal, água e capim Tifton foram fornecidos *ad libitum*. Incoordenação grave, tremores de intenção, perda de equilíbrio, quedas e aumento da base de sustentação foram observadas nos ovinos 1-3. Os sinais foram exacerbados quando os animais eram forçados a andar ou quando aplicado o teste de elevação da cabeça. O ovino 3 apresentou ainda diarreia leve. Todos os animais se recuperaram. Os animais do grupo controle não apresentaram sinais clínicos.

Tabela 2. Intoxicação experimental por *Marsdenia megalantha* em ovinos

Nº ovino	Dose (parte da planta)	Início dos sinais clínicos após administração	Tempo de recuperação
1	20 g/kg ^a (folhas)	14 h	62 h
2	10 g/kg(raiz)	8 h	48 h
3	10 g/kg(raiz)	12 h	72 h
4	5 g/kg(raiz)	NAS ^b	---
5	Controle	NAS	---
6	Controle	NAS	---

^a g por Kg de peso vivo; ^b NAS não apresentou sinais clínicos.

Discussão

O gênero *Marsdenia* compreende cerca de 300 espécies (Morillo, 1997), distribuídas pelas Américas, África, Europa, Ásia, Oceania e Austrália (Omlor, 1998). Há poucos estudos fitoquímicos neste gênero. As espécies mais estudadas são *M. cundurango* Rchb. f., *M. tenacissima* (Roxb.) Lua, e *M. rostrata* R. Br.. A primeira contém glicosídeos e alcalóides (Duke, 1992) e é usado tradicionalmente como uma planta medicinal na região dos Andes na América do Sul (Wiersema e León, 1999). *M. tenacissima* contém vários pregnano-glicósídeos e tem sido usada há muito tempo na medicina tradicional chinesa (Yang et al., 2011). *M. megalantha* é a única espécie brasileiras do gênero cujos efeitos farmacológicos têm sido estudados até agora, e os extratos de caule e folhas da planta têm se mostrado potencialmente úteis como antioxidantes e drogas anticâncer (Oliveira, 2011). A única espécie de *Marsdenia* relatada como tóxica para animais é *M. rostrata* na Austrália (Radostits et al., 2007).

Esta espécie contém glicosídeos esteroidais cardioativos (Thorp e Watson, 1953) e alcalóides esteroidais (Summons et al, 1972;. Gellert e Summons, 1973).

Um glicosídeo esteroidal encontrado em *M. rostrata* é semelhante ao cianocosida, que é encontrada no gênero *Cynanchum* L., e causa sintomas nervosos incluindo hipersensibilidade, agitação, marcha incoordenada, tremores, convulsões, decúbito, crises tetânicas, opistótono, dispnéia, ranger de dentes, salivação e vômitos (Radostits et al., 2007). Estes sinais são semelhantes aos observados nas intoxicações relatadas no presente documento, o que sugere que estas duas espécies de *Marsdenia* contém uma toxina semelhante à cianocosida. Nossos resultados demonstram que *M. megalantha* e *M. hilariana* são tóxicas para ruminantes na região semiárida do Brasil, causando sinais nervosos. Agricultores do Estado do Ceará afirmam que *Marsdenia* aff. *zehntneri* Fontella (Fig. 3), também conhecida como mata-calado é tóxica.



Fig. 3. *Marsdenia* aff. *zehntneri* Fontella. Município de Quixeramobim, Estado do Ceará, Nordeste, Brasil.

As raízes desta espécie também induziu sinais nervosos em ovinos após a administração experimental de 5 g/kg de peso corporal (dados não publicados). Portanto, há pelo menos três espécies tóxicas de *Marsdenia* na região semiárida do nordeste do Brasil. Diagnóstico deve levar em consideração a presença de plantas ou as suas raízes, e à ausência de lesões no sistema nervoso. O principal diagnóstico diferencial é com raiva e botulismo. Não há nenhum tratamento conhecido. As

observações epidemiológicas sugerem que as folhas são ocasionalmente ingeridas por animais famintos, mas tubérculos são palatáveis e se eles estão expostos os animais os ingerem prontamente. As raízes têm de ser recolhidas e eliminadas quando eles são expostas por lavra, erosão do solo ou seu crescimento.

Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

Este trabalho foi financiado pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para o controle de plantas tóxicas, processo 573534/2008-0 CNPq.

Referências

- Duke, J.A., 1992. Handbook of Phytochemical Constituents of GRAS Herbs and Other Economic Plants. CRC Press, Boca Raton, 654 pp.
- Gellert, E., Summons, R.E., 1973. Steroidal alkaloids of *Marsdenia rostrata*. II. the isolation and structure of a new alkaloid, rostratamine. Austral. J. Chem. 26, 1835–1836.
- Morillo, G.N., 1997. Asclepiadaceae. In: Steyermark, J.A., Berry, P.E., Holst, B.K. (Eds.), Flora of the Venezuelan Guayana, vol. 3. Missouri Botanical Garden, Saint Louis, pp. 129–177.
- Oliveira, R.M., 2011. Avaliação das atividades antioxidante, anticoagulante e antiproliferativa de extratos aquosos de *Marsdenia megalantha*. MSc. thesis. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.

- Omlor, R., 1998. Generische Revision der Marsdenieae (Asclepiadaceae). Doktor Dissertation, Universität Kaiserslautern. Shaker Verlag, Aachen, 257p.
- Radostits, E.M., Gay, C.C., Blood, D.C., Hinchcliff, K.W., 2007. Veterinary Medicine, ninth ed. W. B. Saunders, London. 501–550.
- Silva, D.M., Riet-Correa, F., Medeiros, R.M.T., Oliveira, O.F., 2006. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental no Rio Grande do Norte. *Pesq. Vet. Bras* 26 (4), 223–236.
- Summons, R.E., Ellis, J., Gellert, E., 1972. Steroidal alkaloids of *Marsdenia rostrata*. *Phytochemistry* 11, 3335–3339.
- Thorp, R.H., Watson, T.R., 1953. A study of the occurrence of cardio-active constituents in plants growing wild in Australia. I. Families Apocynaceae and Asclepiadaceae. *Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 31, 529–532.
- Wiersema, J.H., León, B., 1999. World Economic Plants. CRC Press, Boca Raton, 749 pp.
- Yang, M., Wang, W.-L., Wu, H., Wang, X.-L., 2011. Pregnane glycosides from stems of *Marsdenia tenacissima*. *Chin. Herb. Med.* 3, 1–4.

Conclusões

- A expectativa de perdas anuais por mortes de animais ocasionadas por plantas tóxicas é de 820.761 a 1.755.763 bovinos, de 399.800 a 445.309 ovinos, de 52.675 a 63.292 caprinos e 38.559 equinos. A maioria das perdas são causadas principalmente por *Palicourea marcgravii*, *Amorimia rigida*, *Senecio* spp., *Pteridium aquilinum*, *Ateleia glazioviana* e *Cestrum laevigatum* em bovinos, *Brachiaria* spp em bovinos e ovinos, *Nierembergia veitchii* e *Ipomoea asarifolia* em ovinos, plantas que contêm swainsonina (*Ipomoea carnea*, *Turbina cordata* e *Sida carpinifolia*) em caprinos e *Brachiaria humidicola* e *Crotalaria retusa* em equinos. Os principais fatores epidemiológicos que as intoxicações por plantas incluem palatabilidade, fome, sede, facilitação social, desconhecimento da planta, acesso a plantas tóxicas, dose tóxica, período de ingestão, variações de toxicidade e resistência dos animais às intoxicações. Os métodos de controle e profilaxia utilizados no Brasil incluem: controle biológico, aversão alimentar condicionada, utilização de variedades não tóxicas de forrageiras, utilização de animais resistentes às intoxicações e técnicas de indução de resistência.
- Os asininos, assim como equinos, são susceptíveis aos efeitos de alguns ADHPs pneumotóxicos. Os alcalóides presentes na *C. juncea* estão associados com doenças respiratórias de equídeos, enquanto que *C. retusa*, que produz o DHPA monocrotalina, faz exclusivamente lesões no fígado. As principais lesões histológicas observadas no pulmão são similares as relatadas nos equinos na intoxicação por *Crotalaria* spp., no entanto a proliferação das células da Clara

para formar nódulos no interstício e a proliferação de células musculares lisas na periferia dos nódulos não foram descritas anteriormente.

- *M. megalantha* e *M. hilariana* são tóxicas para ruminantes na região semi-árida do Brasil, causando sinais nervosos. Os principais diagnósticos diferenciais são raiva e botulismo. Não há nenhum tratamento conhecido. As observações epidemiológicas sugerem que as folhas são ocasionalmente ingeridas por animais famintos, mas tubérculos são palatáveis e se eles estão expostos os animais os ingerem prontamente. As raízes devem ser recolhidas e eliminadas quando expostas por lavra, erosão do solo ou seu próprio crescimento.